

In the name of Allah, the Most Gracious, the Most Merciful



Copyright disclaimer

"La faculté" is a website that collects copyrights-free medical documents for non-lucrative use.

Some articles are subject to the author's copyrights.

Our team does not own copyrights for some content we publish.

"La faculté" team tries to get a permission to publish any content; however, we are not able to contact all the authors.

If you are the author or copyrights owner of any kind of content on our website, please contact us on:
facadm16@gmail.com

All users must know that "La faculté" team cannot be responsible anyway of any violation of the authors' copyrights.

Any lucrative use without permission of the copyrights' owner may expose the user to legal follow-up.



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de
la Recherche Scientifique**



UNIVERSITE D'ALGER 1

**FACULTE DE MEDECINE
D'ALGER**



**POLYCOPIE POUR
1^{ère} ANNEE MEDECINE**

LES ACIDES NUCLEIQUES

Auteurs : - Pr AIT ABDELKADER Bélaïd
- Pr CHIKOUCHE Ammar
- Pr GRIENE Lakhdar

LES ACIDES NUCLEIQUES.

I- structure des nucléotides.

Bases azotées et pentoses

Nucléosides

Nucléotides

II- polynucléotides.

La liaison phosphodiester 3'-5'

A/ADN

-Structure bicaténaire de l'ADN : la double hélice de Watson et Crick

-B-ADN

-Z-ADN

- Propriétés des nucléotides et des acides nucléiques.

A/ADN

Solubilité

Absorption UV

Dénaturation thermique

Hydrolyse

-alcaline

-acide

Enzymatique

B/ARN

-Structure monocaténaire de l'ARN

-différents types d'ARN

-ARNm

-ARNr

-ARNt

-ARNi

CHROMATINE

1/ les nucléosomes

2 / l'euchromatine /hétérochromatine

a-l'euchromatine

b- l'hétérochromatine

3 / les différents ADN nucléaires

3.1. ADN génique

3.2. ADN répétitif groupé

3.3. ADN répétitif dispersé

3.4.le polymorphisme de l'adn

4 / chromosome

Réplication de l'ADN

- I) Le réplicon
- II) Réplication bidirectionnelle
- III) Polymérisation unidirectionnelle et réplication semi-conservative
- IV) Réplication semi-discontinue
- V) Les ADN polymérases
 - 1) Généralités
 - 2) Activités des ADN polymérases
 - 3) ADN polymérases procaryote dans la réplication
 - 4) Le polymorphisme de l'ADN
- VI) Mécanismes de la réplication procaryote chez E-Coli
 - 1) Les différentes protéines mise en jeu
 - 2) Origines et terminaisons chez E-Coli
 - 3) Les étapes de la réplication procaryote
 - 4) Régulation de la réplication chez E-Coli
- VII) La réplication eucaryote
 - 1) Les ADN polymérases eucaryotes
 - 2) Les télomères
- VIII) La réplication du matériel génétique des rétrovirus

Réparation de l'ADN

- I) Mutations : alterations de l'information génétique
 - 1) Additions ou délétions de bases
 - 2) Substitutions de bases
- II) Lésions ou dommages de l'ADN
 - 1) Lésions endogènes sans agents exogènes
 - 2) Lésions provoquées par des agents pathogènes
 - a) Les lésions dues à des mutagènes physiques
 - b) Les lésions dues à des mutagènes chimiques
- III) Mécanismes de réparation procaryote chez E-Coli
 - 1) Mécanismes prenant place en dehors de la période de réplication
 - a) Réparation par réversion des lésions
 - b) Réparation par excision de bases (système BER)
 - c) Réparation par excision de nucléotides (système NER)
 - 2) Mécanismes de réparation liés à la période de réplication
 - a) Réparation de mésappariements par le système Mut HLS
 - b) Réparation par recombinaison
 - 3) Le système SOS chez E-Coli

- III) Mécanismes de réparation eucaryote

Transcription de l'ADN

- I) Généralités
- II) Transcription de l'ADN procaryote
 - 1) Pré-initiation
 - 2) Initiation
 - 3) Elongation
 - 4) Terminaison
 - 5) Maturation des transcrits primaires
- III) Transcription de l'ADN eucaryote
 - 1) Les ARN-polymérases eucaryotes
 - 2) Différence dans la transcription eucaryote
 - a) Complexe protéique nécessaire à la transcription
 - b) Promoteur minimum et régions régulatrices
 - 3) Les régions cis-régulatrices
 - a) Les séquences amplificatrices de types enhancers
 - b) Les séquences extinctrices de types silencers
 - c) Les séquences isolantes de types insulators
 - 4) Caractéristiques structurales des protéines régulatrices
 - 5) Maturations des transcrits primaires
 - a) Addition de la coiffe en 5' (ou capping)
 - b) Poly-adénilation en 3' par la poly-A polymérase
 - c) Excision des introns et épissage des exons (ou splicing)
 - d) Epissage alternatif

Traduction de l'ADN

- I) Le code génétique
- II) Les acteurs de la traduction
 - 1) Les ribosomes
 - 2) Les ARNt
 - a) Structure des ARNt et ARNt iso-accepteur
 - b) Chargement de l'acide aminé sur l'ARNt
- III) Les différentes étapes de la traduction procaryote
 - 1) Initiation
 - 2) Elongation
 - a) Réaction de couplage
 - b) Formation de la liaison peptidique et libération du premier ARNt
 - c) Translocation
 - 3) Terminaison

- IV) Les spécificités de la traduction eucaryote

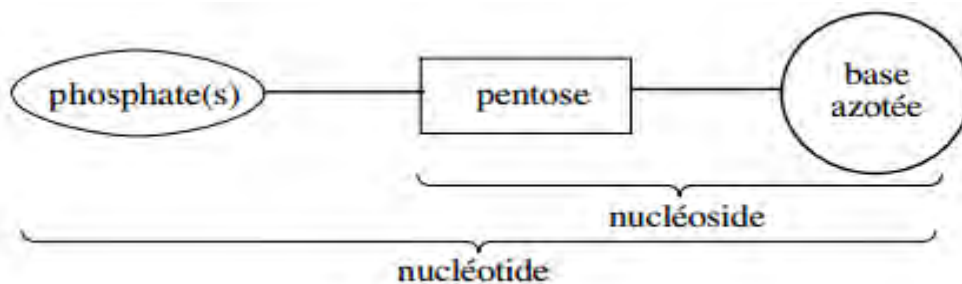
REGULATION DE L'ADN

- I) Régulation de l'expression des gènes dans la cellule procaryote
 - 1) Au niveau transcriptionnel
 - a) Régulation de l'expression des gènes impliqués dans les voies cataboliques
 - b) Régulation de l'expression des gènes impliqués dans les voies anaboliques
 - 2) Au niveau traductionnel
- II) Régulation de l'expression des gènes dans la cellule eucaryote
 - 1) Au niveau chromatinien
 - 2) Au niveau transcriptionnel
 - 3) Au niveau post-transcriptionnel
 - 4) Au niveau traductionnel et post-traductionnel

LES ACIDES NUCLEIQUES

I/ Les Nucléotides

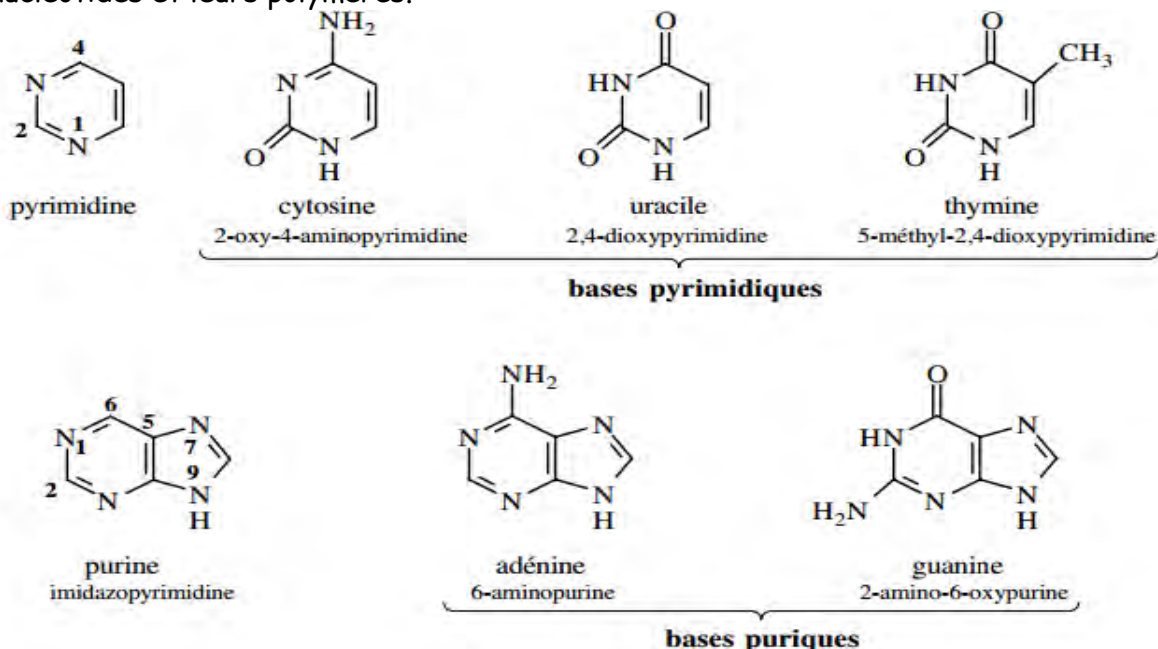
Un nucléotide résulte de la condensation d'un ose (pentose) avec une base nucléique (hétérocycle azoté) qu'on appelle nucléoside, l'estérification de l'ose d'un nucléoside par l'acide phosphorique produit un nucléotide.



1

.1. Les bases azotées

Cinq bases majeures, partagées en deux séries, entrent dans la composition des nucléotides et leurs polymères.



Les nucléotides de l'ADN, comme ceux de l'ARN ne comportent que quatre de ces bases azotées :

- deux puriques communes aux deux types d'acides nucléiques
- une pyrimidique commune : la cytosine

- une pyrimidique spécifique : l'uracile pour l'ARN et son dérivé méthylé, la thymine pour l'ADN

1.2 Les bases modifiées dans l'ADN ou l'ARN

la 5-méthylcytosine est trouvée dans l'ADN des plantes et des animaux sauf les insectes.

la N6-méthyladénine est présente dans les bactéries.

Les ARN et principalement les ARNt contiennent une variété étendue de dérivés : des dérivés hydrogénés (5, 6-dihydrouracile) ou soufrés (thiouracile ou 2-oxy-4-thiopyrimidine) des pyrimidines, ou encore des formes altérées de la guanine, la xanthine (2, 6-oxypurine) et l'hypoxanthine (6-oxypurine).

1.3 Des dérivés : molécules d'intérêt biologique

- Lorsqu'elles ne sont pas recyclées, les bases puriques sont dégradées en acide urique par passage par des formes désaminées hypoxanthine et xanthine

Des analogues synthétiques Des analogues des bases nucléiques sont utilisés :

- comme molécules de marquage en biologie moléculaire :

5-bromouracile sur lequel peuvent être greffés des molécules marqueurs - comme agents thérapeutiques, agissant en compétition avec les bases naturelles, ils bloquent la multiplication des bactéries,

la mitose : - antitumoraux : ce sont les dérivés fluorés (5-fluorouracile), thiols (6-thiopurine) ou encore aza (N remplace un C : 8-azaguanine) qui sont utilisés - un antiviral classique (acyclovir) est un dérivé de la guanine : (2-hydroxyéthoxyl)9-méthylguanin.

2 Les oses

2.1. D-ribose :

- ose à 5 carbones,
- sous forme cyclisé en ribofuranose (anomère β),
- présent dans l'ARN.

La numérotation des C de l'ose porte des "primes".

2. 2. désoxy-D-ribose

Dérive du ribose par réduction de sa fonction alcool secondaire en 2', présent dans l'ADN.

3. Acide phosphorique

- H_3PO_4
- 3 fonctions acides à l'état libre.

II/ Les nucléosides

Une liaison covalente (liaison N-osidique) fixe les bases à un pentose.

1 liaison base-ose : nucléoside

C'est une liaison N-osidique : il y a élimination d'une molécule d'eau entre :

-l'OH semi-aldéhyde de l'ose en 1', et un Hydrogène de la base purique en 9

de la base pyrimidique en 1

-liaison N-béta-osidique.

2 liaison base-ose- H_3PO_4 : le nucléotide

Il s'agit d'une liaison ester : on observe une élimination d'une molécule d'eau entre :

- l'OH de la fonction alcool primaire en 5' de l'ose du nucléoside,
- l'un des OH de l'acide phosphorique.

3. Nomenclature

3.1 Nucléosides

Pour les purines : suffixe en "osine". Exemple : adénosine

Pour les pyrimidiques : suffixe en "idine". Exemple : thymidine

3.2 Nucléotides

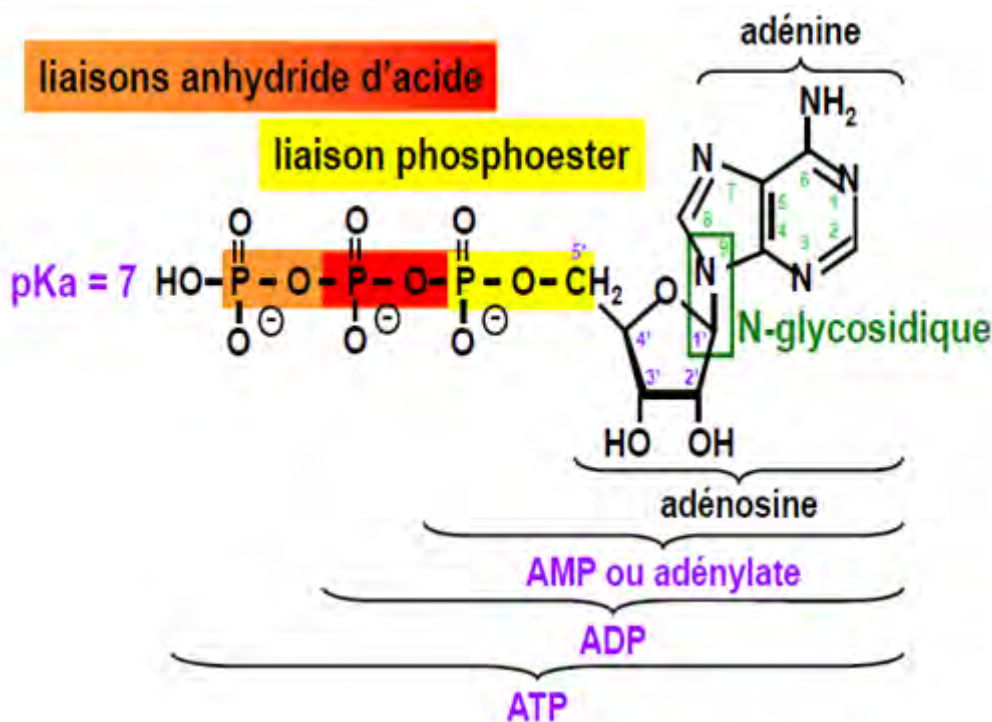
Pour les purines : suffixe en "ylique". Exemple : acide adénylique ou Adénosine

MonoPhosphate (AMP)

Pour les pyrimidines : suffixe en "idylique". Exemple : acide thymidylique ou Thymidine

MonoPhosphate (TMP)

Pour indiquer que l'ose est le désoxyribose, "d-" est placé avant le nom de la molécule.



4. Différents nucléotides dans les milieux extracellulaires

Ils sont sous formes de mono, di ou triphosphate.

Dans les dérivés di ou triphosphate les liaisons des deuxième et troisième phosphate (β et γ) sont caractérisées par leur énergie d'hydrolyse très élevée.

Les nucléosides existent dans les cellules :

- sous forme de nucléosides
- sous forme de dérivés de nucléotides (NAD, NADP, FAD...), ils ont donc un rôle en tant que cofacteur d'enzymes,
- comme constituants des acides nucléiques, ils ont alors un rôle de support de l'information génétique.

5. Liaison des nucléotides dans les acides nucléiques

5.1 Liaison ester :

Elle est créée par élimination d'une molécule d'eau entre :

- la fonction alcool secondaire en 3' du ribose d'un nucléotide,
- la fonction acide de l'acide phosphorique en 5' du nucléotide suivant.

Or l' H_3PO_4 en 5' est déjà engagé par une de ses fonctions acides dans une liaison ester avec le ribose : il s'agit donc en fin de compte d'une liaison phosphodiester.

5.2. Acide Phosphorique

La troisième fonction acide de l'acide phosphorique reste libre : elle confère un caractère acide aux "acides" nucléiques.

5.3. Un acide nucléique possède 2 extrémités

- L'extrémité 5'P (phosphate) : l' H_3PO_4 en 5' de l'ose est libre,
- l'extrémité 3'OH : l'OH en 3' de l'ose est libre.

Par convention la lecture et l'écriture des acides nucléiques se fait dans le sens 5' vers 3'

6. Conclusion

Dans la chaîne nucléotidique, seuls les riboses et phosphates jouent un rôle dans l'enchaînement des nucléotides entre eux, les bases ont un autre rôle : elles sont les supports de l'information génétique.

III/ Les acides nucléiques

A/ ADN

1. ADN des cellules eucaryotes

1.1 ADN nucléaire

1.1.1. Les bases

- puriques : adénine et guanine : A, G
- pyrimidiques : cytosine et thymine : C, T

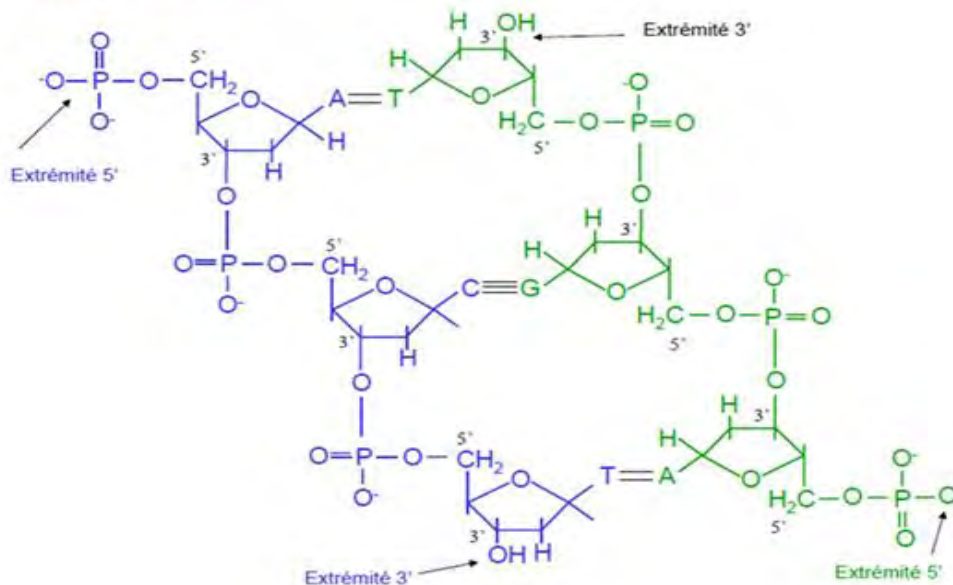
1.1.2. L'ose : le désoxyribose

1.1.3. La structure

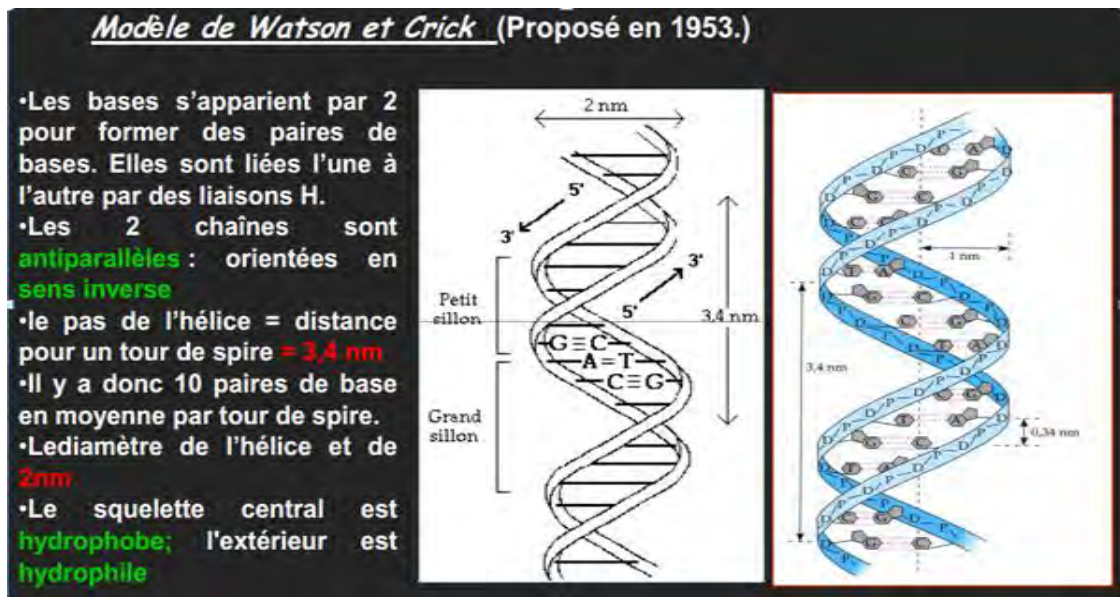
1. **bicaténaire** : 2 brins
2. **brins antiparallèles** : $5' \rightarrow 3'$ et $3' \rightarrow 5'$
3. **brins complémentaires** :
 - La structure est assurée par des liaisons hydrogènes entre les bases :
 - hybridation A-T : 2
 - hybridation C-G : 3
 - liaisons hydrogène entre :
 - une fonction amine NH_2 et un groupement C=O (carbonyle),
 - un azote d'un cycle et l'hydrogène porté par un azote de l'autre cycle.

- complémentarité des bases : absolue $[A]=[T]$
- Pour tous les ADN de toutes les espèces. $[C]=[G]$
- 2 bases sont complémentaires dans un même plan
- Chaque paire de base a le même encombrement stérique

Antiparallélisme



- Au final on a une structure régulière, un encombrement constant
4. **Structure hélicoïdale** : les 2 brins de l'ADN :
- s'enroulent autour d'un axe central imaginaire
 - forment une "échelle" :
 - barreaux : formés par la paire de bases complémentaires (hydrophobe dans la région interne de l'édifice moléculaire)
 - montants : formés par l'enchaînement des désoxyribose-phosphate (hydrophiles, acides, orientés vers l'extérieur de l'édifice moléculaire) : "squelette ribose-phosphate"
 - On a une structure en double hélice : James Watson et Francis Crick 1953 (prix nobel 1962)



5. **Structure dynamique, flexible** : La position des bases par rapport au désoxyribose peut être soit du même côté de la molécule (position "SYN"), soit éloignée (position "ANTI"). Ces variations spatiales peuvent générer différentes conformations de l'ADN : le B-ADN, plus exceptionnellement le Z-ADN...

Le B-ADN :

- pas de l'hélice à droite,
- ≈ 10 paires de bases par tour de spire,
- pas de l'hélice = 3,4 nm,
- diamètre = 2,4 nm,
- bases puriques et pyrimidiques : conformation "ANTI", les bases sont éloignées des désoxyriboses,
 - La spirale est régulière :
 - plan des oses perpendiculaire à celui des bases,
 - plan des bases perpendiculaire à l'axe de l'hélice.

• Le Z-ADN :

- pas de l'hélice à gauche,
- moins torsadé que le B-ADN,
- ≈ 12 paires de bases par spire,
- pas de l'hélice supérieur = 4,6 nm,
- diamètre inférieur = 1,8 nm,
- présent dans les zones d'ADN où il existe une alternance de CGCG dans lesquelles G est en position "SYN" et C est en position "ANTI" et méthylée.
- L'ADN a un aspect de zigzag.

Quelles sont les fonctions de ce Z-ADN ?

- Il est moins stable que le B-ADN,
- les gènes méthylés ne sont pas exprimés.

Que ce soit dans le B-ADN ou dans le Z-ADN, la torsion de l'ADN définit 2 sillons : un grand et un petit.

ADN des êtres vivants

Différences eucaryotes / procaryotes :

- ADN isolé (eucaryote) ou non (procaryote) du cytoplasme par une membrane nucléaire,
- plusieurs molécules (chromosomes) dans les cellules eucaryotes / une seule molécule chez les virus et bactéries (procaryotes),
- forme linéaire = eucaryote / circulaire = procaryote,
- nombres de nucléotides : des milliards (répartis sur plusieurs molécules) = eucaryotes / des milliers dans les cellules procaryotes.

Similitudes eucaryotes / procaryotes :

- structure commune : enchaînement des nucléotides,
- bicaténaire (sauf pour quelques virus),
- séquences de bases caractéristiques de chaque molécule d'ADN.

1.2. ADN mitochondrial

- 2 brins, circulaire,
- il code pour les différents ARN nécessaire à la synthèse des protéines de la chaîne respiratoire (analogue des ARN cytoplasmiques),
- il possède un code génétique mitochondrial légèrement différent du code nucléaire,
- l'hérédité est cytoplasmique et maternelle : l'embryon hérite de l'ADN mitochondrial du cytoplasme de l'ovule. Les maladies mitochondriales sont transmises par la mère.

2. ADN des êtres vivants

2.1. Différences eucaryotes / procaryotes :

- ADN isolé (eucaryote) ou non (procaryote) du cytoplasme par une membrane nucléaire,
- plusieurs molécules (chromosomes) dans les cellules eucaryotes / une seule molécule chez les virus et bactéries (procaryotes),
- forme linéaire = eucaryote / circulaire = procaryote,
- nombres de nucléotides : des milliards (répartis sur plusieurs molécules) = eucaryotes / des milliers dans les cellules procaryotes.

2.2. Similitudes eucaryotes / procaryotes :

- structure commune : enchaînement des nucléotides,
- bicaténaire (sauf pour quelques virus),
- séquences de bases caractéristiques de chaque molécule d'ADN.

3. Propriétés de l'ADN

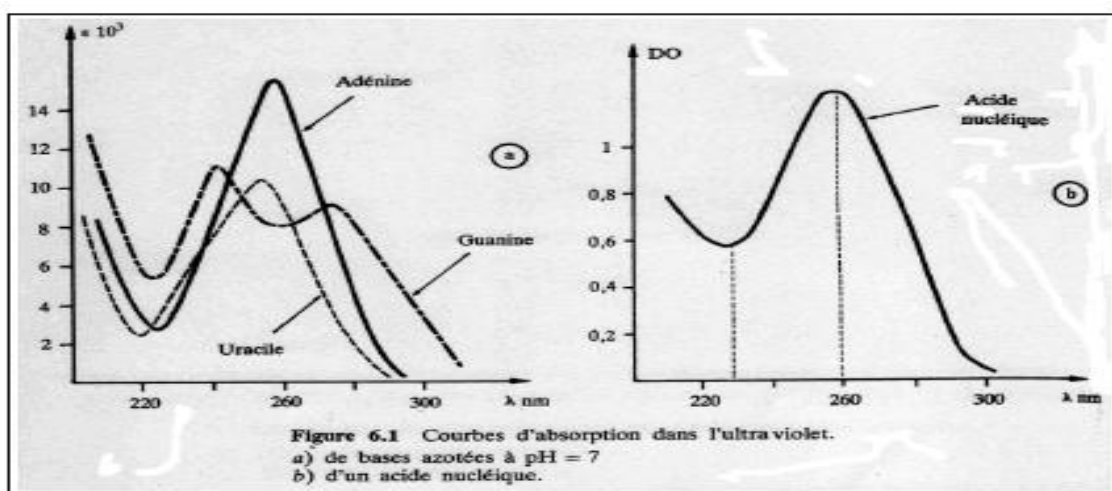
3.1 Solubilité :

L'ADN devient un sel d'acide en milieux aqueux et est ainsi soluble. Il précipite en présence d'éthanol et d'une forte concentration saline. Cette propriété permet sa purification.

3.2 Absorption UV :

Les nucléotides absorbent dans les UV à 260 nm.

L'ADN absorbe moins que ne le fait des nucléotides libres en même quantité, on qualifie ce phénomène d'**hypochrome**.



3.3 Dénaturation thermique

La dénaturation thermique correspond au fait que les deux brins de l'hélice se dissocient par l'action de la chaleur.

La **température de fusion** ou **T_m** est la température à laquelle la molécule d'ADN est à moitié désappariée.

Elle dépend :

la longueur de la molécule d'ADN,,

la richesse en paires de bases C-G (40% du génome humain)

Le T_m humain est de **86°C** et la dénaturation complète est à **95°C**.

La dénaturation est mesurable par la mesure du T_m , en effet la dénaturation augmente l'absorption des rayons UV, ceci est appelé un **effet hyperchrome**.

Pour que la renaturation soit parfaite il faut obtenir le chemin inverse de la courbe de dénaturation et donc un refroidissement lent. Lorsque le refroidissement est trop rapide, la réassociation est irréversible. La renaturation est seulement possible pour des petites molécules d'ADN. Les possibilités de **renaturation** sont utilisées pour faire de l'hybridation moléculaire pour étudier l'ADN humain .



3.4. Hydrolyse

Hydrolyse alcaline

Elle ne va être efficace que sur l'ADN simple brin. Elle va libérer les nucléotides, en mélangeant les nucléotide 2'monophosphate et 3'monophosphate.

Hydrolyse acide

on peut la faire sur l'ADN, l'ARN simple brin ou double brin, et on libère les bases azotées. Le traitement acide doit être à chaud.

Hydrolyse enzymatique

Les enzymes qui coupent les acides nucléiques sont appelés des nucléases. Elle coupe les liaisons phosphodiester, uniquement sur les acides nucléiques linéaire.

On distingue 2 types de nucléases :

- les exonucléases : elles coupent le bout des chaînes sans spécificité de base.
- les endonucléases : elles coupent les liaisons interne.

B/ARN

4. ARN des cellules eucaryotes

4.1 ARN : caractéristiques

- base :
 - puriques : adénine et guanine,
 - pyrimidiques : cytosine et uracile,
- ose : ribose (D-ribose),
- structure :
 - monocaténaire : un seul brin,
 - mais appariement des ARN : entre les 2 molécules d'ARN distinctes (ARNm et ARNt), ou au niveau des régions de repliement au sein d'une même molécule d'ARN (ARNt). $[A]=[U]$ $[G]=[C]$

4.2 Différents ARN, rôle : synthèse protéique

4.2.1. ARN ribosomique ARNr

- ARNm
- ARNt
- petits ARN nucléaires (snARN small nuclear) : maturation des ARNm.
- autres fonctions :
 - amorce (court segment) pour la réplication de l'ADN
 - ARN7SL (SRP : signal recognition particule) : responsable du déplacement des ribosomes dans le cytosol
 - ARN interférent

4.2.2. ARNm = 2%

4.2.2.1. Rôle

- copie d'une séquence d'ADN contenant l'information pour la synthèse d'une seule protéine,
- transfère l'information du noyau au cytoplasme.

4.2.2.2. Structure

- synthétisé dans le noyau : "transcrit primaire", taille très variable (ARN nucléaires hétérogènes, ARNnh),
- mature dans le cytoplasme,
- "décodé"/ ribosomes : synthèse protéiques
- durée de vie très courte :
 - quelques minutes à qq jours,
 - décodés" plusieurs fois au niveau des ribosomes avant d'être dégradés.

4.2.3. ARNr = 80%

4.2.3.1. Rôle

- fixation des autres ARNt/m,
- support cytoplasmique de la synthèse protéique,
- libres ou liés au RE(G).

4.2.3.2. Structure

Les ribosomes sont :

- formés par :

- la petite sous unité de 40S : environ 1500 nucléotides,
- la grande sous unité de 60S : environ 4000 nucléotides
- séparées par un sillon dans lequel passera l'ARNm
- constitués à 65% d'ARNr et à 35% de r-protéines.

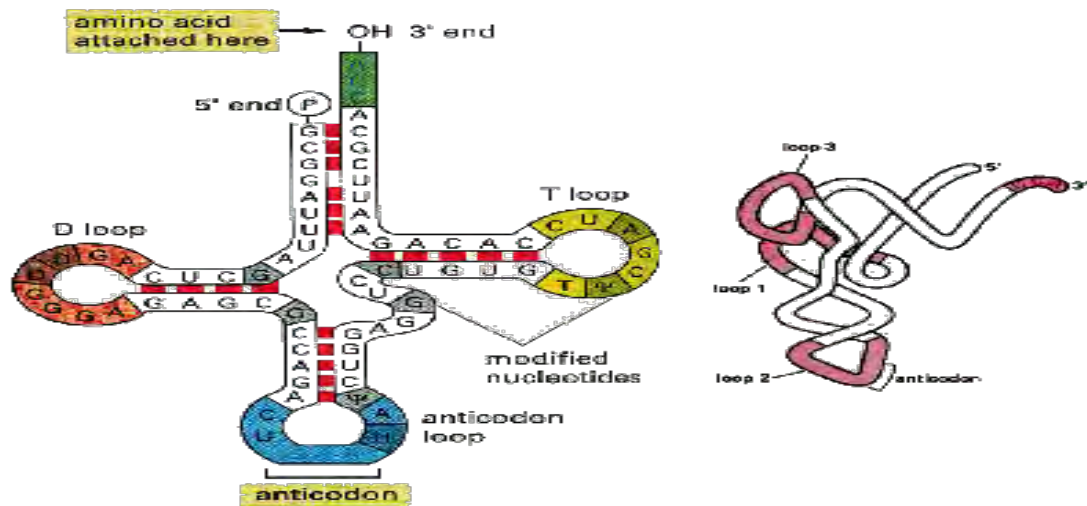
4.2.4. ARNt = 15%

4.2.4.1. Rôle

Transfert des acides aminés libres du cytoplasme vers le ribosome.

4.2.4.2. Structure

- environ 100 nucléotides,
- bases atypiques :
 - hypoxanthine,
 - thymine et autres bases méthylées,
- bases modifiées secondairement à la synthèse des ARNt : ces modifications sont post-traductionnelles et elles sont responsables d'une configuration spatiale particulière qui confère aux ARNt cette forme spatiale en "feuille de trèfle",
- au niveau des branches :
 - repliement du brin d'ARN monocaténaire,
 - appariements entre bases complémentaires par des liaisons hydrogènes
- au niveau des boucles :
 - présence de bases atypiques,
 - nucléotides non appariés.
- 2 sites fonctionnels très importants :
 - l'extrémité 3'OH :
 - chaque ARNt se termine par 3 nucléotides *CMP, CMP, AMP* "*CCA*",
 - fixe l'acide aminé à transporter;
- l'anticodon :
 - composé de 3 nucléotides,
 - situé au niveau d'une boucle,
 - reconnu par le codon de l'ARNm avec lequel il s'apparie;
- l'appariement codon-anticodon :
 - entre bases complémentaires du codon et de l'anticodon,
 - par des liaisons hydrogènes,
 - antiparallèle.



4.2.5. ARNi (interférent)

Il est formé à partir de :

- transgènes,
- séquences d'ADN répétitif,
- double brin,
- rôle : il inhibe l'expression de gènes spécifiques.

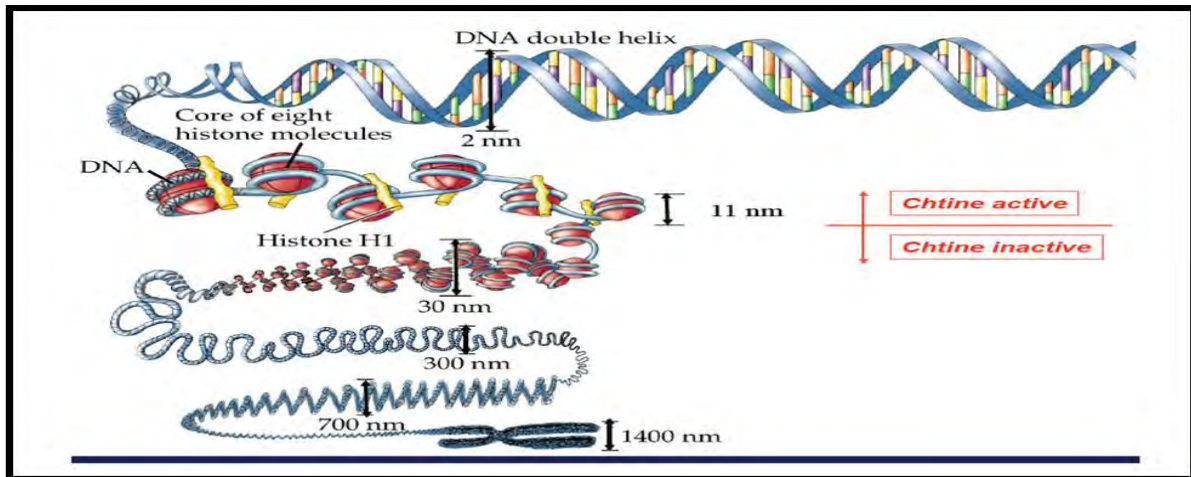
L'ARN est fragile "in vitro" : l'ARN, contrairement à l'ADN, est très facilement dégradé par des enzymes ribonucléases présentes sur la peau humaine. La manipulation des ARN au laboratoire nécessite donc de travailler avec du matériel stérile et des gants.

LA CHROMATINE

1. ORGANISATION DE L'ADN NUCLEAIRE : CHROMATINE

Le génome humain est composé de trois milliards de paires de bases (pb), représentant une longueur totale d'ADN déroulé d'environ deux mètres. Or cet ADN est présent au sein du noyau cellulaire, dont le diamètre n'excède pas une dizaine de micromètres.

Afin de pouvoir être contenu dans le noyau, l'ADN doit donc être compacté, grâce à son association à des protéines particulières, les histones, pour former une structure appelée chromatine.



La chromatine, qui contient l'information génétique, assure trois fonctions essentielles du génome :

- La compaction de l'ADN,
- L'organisation des territoires et des fonctions chromosomiques (télomères, centromères),
- La modulation de l'accessibilité de l'ADN à divers facteurs régulateurs des fonctions nucléaires.

La chromatine des cellules eucaryotes constitue un polymère nucléoprotéique, avec le nucléosome comme unité de base.

1/Les nucléosomes

Le nucléosome est composé de 146 pb d'ADN enroulées autour d'un octamère protéique, comprenant deux exemplaires de chacune des histones de cœur - H2A, H2B, H3 et H4 .

Les nucléosomes sont reliés entre eux par un fragment d'ADN internucléosomique ou ADN de liaison. Le nucléofilament de 11 nm de diamètre ainsi formé ressemble à un collier de perles (chaque perle correspondant à un nucléosome), régulièrement espacées le long du brin d'ADN (Figure).

L'ADN de liaison interagit avec une autre protéine histone, H1, dite « histone de liaison ». Les histones H1 permettent la compaction des nucléosomes pour former la fibre de 30 nm.

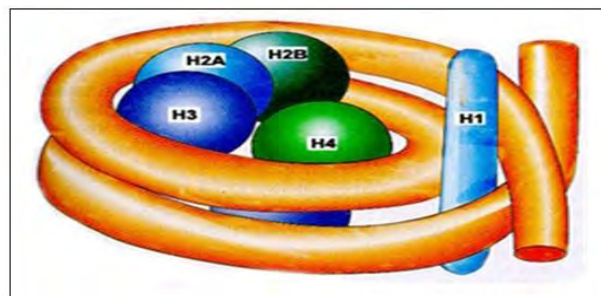


Figure. Structure du nucléosome

L'architecture et le mode de compaction de cette fibre de 30 nm ne sont pas clairement définis et deux modèles d'organisation sont actuellement proposés (Figure).

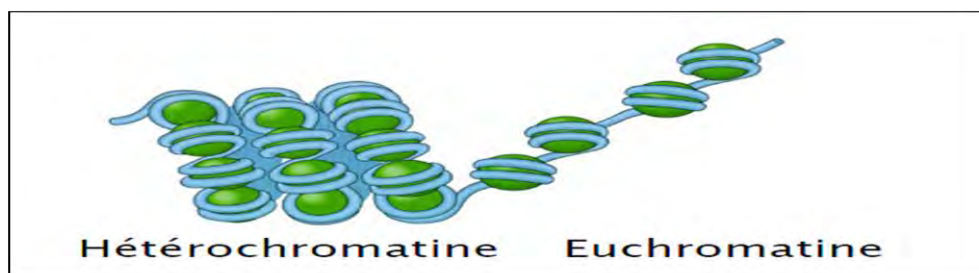
Dans le premier modèle, ou modèle du solénoïde, l'ADN compris entre deux nucléosomes se courbe pour permettre l'enroulement du nucléofilament en une structure de forme hélicoïdale.

Dans le deuxième modèle, le nucléofilament est considéré comme une structure de type rigide adoptant une forme en « zig-zag ».

2. L'EUCHROMATINE /HETEROCHROMATINE

L'étude de la compaction du génome, par l'utilisation de colorants spécifiques, a permis de différencier deux types de chromatine : (Figure)

a- L'euchromatine ou « chromatine vraie », décrite en 1928 par le botaniste Emile Heitz, qui apparaît modérément colorée en interphase au cours de laquelle elle se décondense ; L'euchromatine correspond aux régions chromosomiques chimiquement modifiées et associées à des protéines favorisant une structure décompactée, accessible à divers facteurs de régulation, notamment transcriptionnels donc accessible à la transcription.



b- L'hétérochromatine ou « autre chromatine », qui correspond aux régions chromosomiques restant condensées, et qui sont donc colorées en interphase. L'hétérochromatine est caractérisée par une composition en séquences génomiques et en protéines induisant une structure fortement compactée de la chromatine, globalement non permissive à la transcription, car peu accessible aux facteurs régulateurs.

3. LES DIFFERENTS ADN NUCLEAIRES

Le Génome est l'ensemble de l'information génétique.

3.1. ADN génique : 25%

ADN codant pour la plupart des protéines :

- chaque gène est présent sous forme de 1 ou 2 copies ou quelques copies,

ADN codant pour les histones :

- ARNt (taille moyenne = 100 nucléotides),
- ARNr,
- Les gènes codant pour ces protéines et ces ARN sont répétés plusieurs milliers de fois.
-

3.2. ADN répétitif groupé = 10% du génome

Les séquences sont :

- courtes, environ 10 à environ 100 paires de bases,
- répétées : des milliers à millions de copies,
- disposées en tandem les unes à la suite des autres,
- généralement non codantes .

3.3. ADN répétitif dispersé = 50% du génome

- Les séquences répétées sont :
- Rétrotransposons :
 - LINE (long interspersed nuclear elements) séquences capable d'être copiées et transposées dans le génome par un mécanisme spécifique mettant en jeu un ARN.
 - SINE (short interspersed nuclear elements) \approx 500 paires de bases
 - transposons : séquences capables d'être copiées dans le génome
 - protéines connues, mais non traduites, il y en a environ 2000. Témoins de l'évolution ?
 - transgènes : séquences d'ADN provenant d'autres espèces (ex : virus)

Dans les cellules eucaryotes, seule une partie de l'ADN contient l'information nécessaire à la synthèse des protéines.

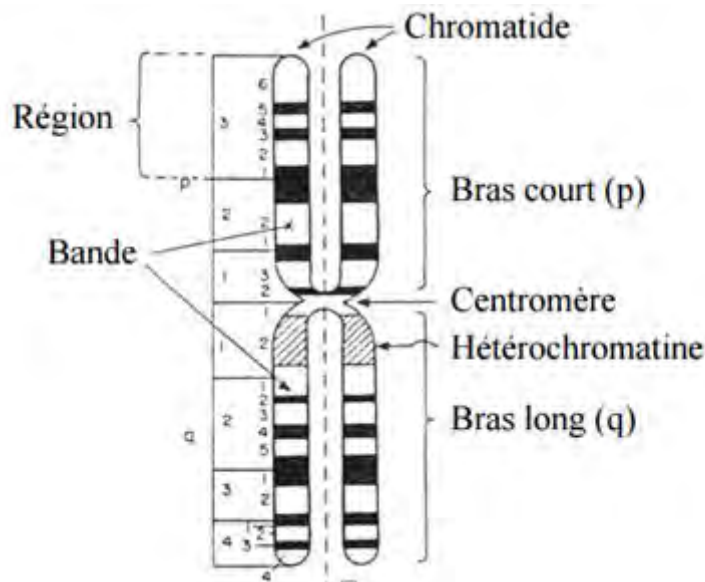
3.4. Le polymorphisme de l'ADN

Les gènes qui codent pour des protéines ne représentent que 3% du génome humain, le restant de la molécule d'ADN (97%) est non codante. De plus la structure de l'ADN humain est très variable d'un individu à un autre et ces variations sont surtout présentes au niveau de ces parties non codantes, mais aussi au niveau des gènes.

4. LE CHROMOSOME

Le caryotype humain normal comporte 46 chromosomes : 22 paires d'autosomes, notés de 1 à 22 en fonction de leur taille décroissante et 1 paire de gonosomes, ou chromosomes sexuels : XX chez le sujet féminin et XY chez le sujet masculin.

Chaque chromosome comporte un centromère, région qui contient le kinétochore, centre d'organisation des microtubules, responsable de la fixation des chromosomes au fuseau mitotique lors de la mitose. Les deux chromatides sœurs, résultant de la réplication d'un chromosome, sont unies dans leur zone hétérochromatique de chaque côté du centromère (Figure)



4.1. Les différents ADN nucléaires

Le Génome est l'ensemble de l'information génétique.

4.2. ADN génique : 25%

ADN codant pour la plupart des protéines :

- chaque gène est présent sous forme de 1 ou 2 copies ou quelques copies,
- généralement proches sur le même chromosome,
- taille très variable, en moyenne = 30 000 nucléotides.

ADN codant pour les histones :

- ARNt (taille moyenne = 100 nucléotides),
- ARNr,
- Les gènes codant pour ces protéines et ces ARN sont répétés plusieurs milliers de fois.

4.3. ADN répétitif groupé = 10% du génome

Les séquences sont :

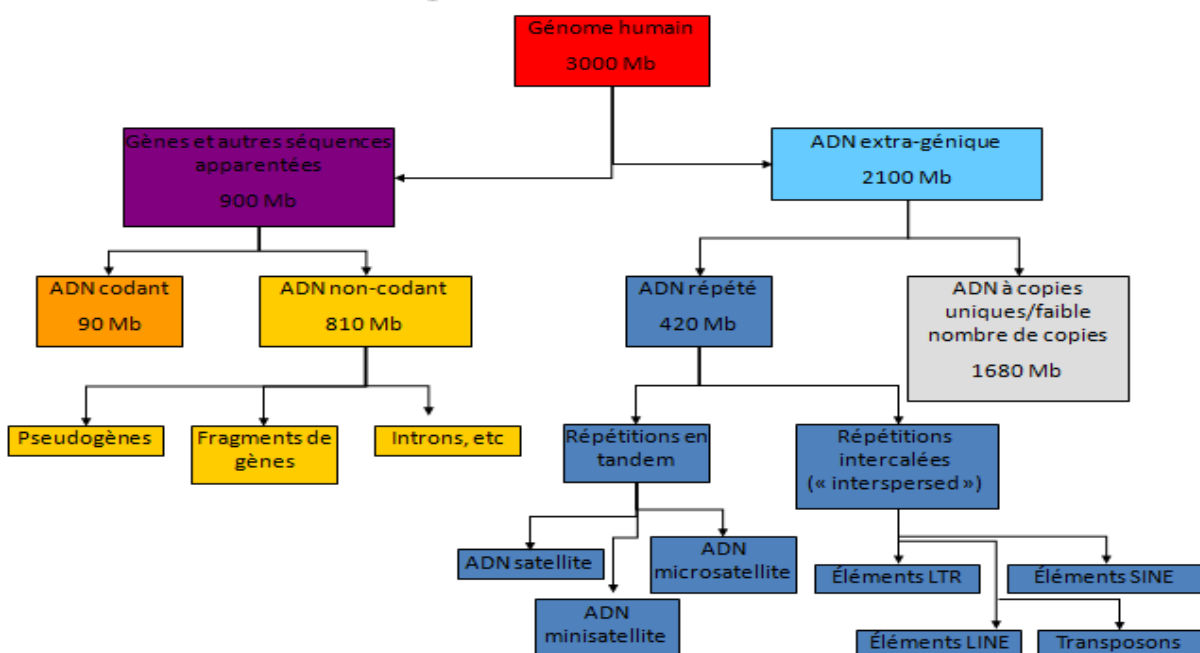
- courtes, environ 10 à environ 100 paires de bases,
- répétées : des milliers à millions de copies,
- disposées en tandem les unes à la suite des autres,
- situées sur les chromosomes dans la région des centromères et au niveau des télomères,
- généralement non codantes (non transcrite et non traduites).

4.4. ADN répétitif dispersé = 50% du génome

- Les séquences répétées sont :
 - dispersées tout au long du génome,
 - en grande partie non codantes,
 - rétrotransposons : -transposons, -pseudo-gènes, -transgènes.
- Rétrotransposons :
 - LINE (long interspersed nuclear elements) \approx 5000 paires de bases; séquences capable d'être copiées et transposées dans le génome par un mécanisme spécifique mettant en jeu un ARN.
 - SINE (short interspersed nuclear elements) \approx 500 paires de bases
 - transposons : séquences capables d'être copiées dans le génome par un mécanisme de "copiage-collage".
 - pseudo-gènes : séquences semblables à celles de gènes codant pour des protéines connues, mais non traduites, il y en a environ 2000. Témoins de l'évolution ?
 - transgènes : séquences d'ADN provenant d'autres espèces (ex : virus)

Dans les cellules eucaryotes, seule une partie de l'ADN contient l'information nécessaire à la synthèse des protéines.

Le génome humain



Réplication de l'ADN

La phase de réplication est rapide et fiable, et correspond à la reproduction de l'ADN à l'identique. Durant cette phase il peut y avoir des brassages mais aucune information n'est perdue. La réplication s'effectue entre la phase G1 et G2 du cycle cellulaire, c'est la phase « S ».

La réplication de l'ADN doit respecter deux principes :

- l'ensemble du génome doit être répliqué à chaque division cellulaire
- chaque molécule d'ADN n'est répliquée qu'une seule fois par cycle cellulaire.

Exception :

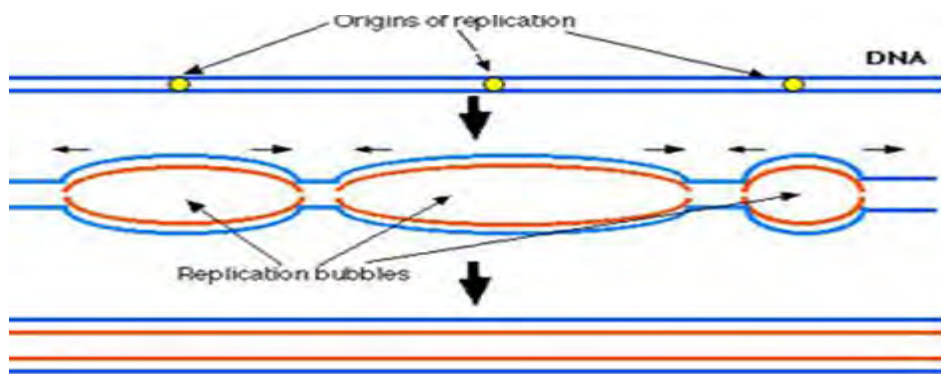
Les **chromosomes polythènes** sont soumis à des divisions sans mitose (= endomitose) qui entraîne une accumulation de copie d'ADN dans la cellule.

I) Le réplicon

Le réplicon est l'unité de réplication de l'ADN eucaryote, il contient une origine et une terminaison (Remarque : L'ADN procaryote est circulaire et présente une seule origine de réplication). En effet l'ADN peut être répliqué à plusieurs endroits en même temps, sans cela la réplication de l'ADN eucaryote durerait 800 heures et l'homéostasie de l'organisme ne serait pas respectée. l'ADN eucaryote présente plusieurs origines

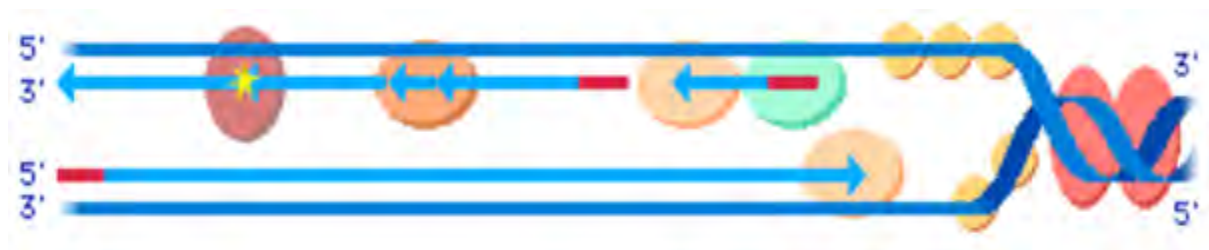
Les réplicons sont des segments de taille variant de 30 000 à 150 000 bases .

L'origine de réplication n'est pas localisée au hasard sur la molécule d'ADN, elle se présente sous forme de petite séquence répétée reconnue par des protéines. Elle mesure environ 200 paires de bases (pdb) pour les procaryotes et 2000 pdb pour les eucaryotes.



II) Réplication bidirectionnelle

A chaque origine de réplication, il y a formation d'un œil de réplication qui s'agrandit tout le long de l'avancement au niveau des fourches de réplication. Il y a ainsi deux systèmes de réplication qui évoluent en sens opposés. On dit que la réplication est **bidirectionnelle**.



III) Polymérisation unidirectionnelle & réplication semiconservative

Les deux brins d'ADN sont associés de manière antiparallèle, chacun d'eux possédant une extrémité 5'- phosphate et une extrémité 3'-OH libre.

La polymérisation est **unidirectionnelle**,

La réplication est semiconservatrice se fait par copie de l'ADN matriciel. Chaque molécule d'ADN initialement présente se séparera en deux brins d'ADN qui serviront de matrice aux brins néo-synthétisés.

IV) Réplication semi-discontinue

la synthèse de l'ADN se fait toujours dans le sens 5' vers 3', ceci nécessite donc la présence d'un **brin précoce** (ou primaire) qui est le brin lu dans le sens de la fourche et d'un **brin tardif** (ou secondaire) qui est le brin lu dans le sens inverse de la fourche et qui est dit **brin discontinu**. On parle ainsi de **réplication semi-discontinue**.

V) Les ADN polymérases

1) Généralités

Les ADN polymérases (ou désoxynucléotidyl-transférase) sont les enzymes responsables de la polymérisation des nucléotides lors de la réplication de l'ADN.

Les ADN polymérases procaryotes sont de 3 types (I, II et III) et les ADN polymérases eucaryotes de 5 types (α , β , δ , ϵ et γ)

Les ADN polymérases nécessitent un certain nombre de conditions d'activités :

- Les 4 désoxy-ribo-nucléotides 5' tri-phosphate (dATP, dTTP, dCTP et dGTP) en quantité équimolaire.
- Des ions magnésiums (Mg^{2+}) qui stabilisent l'ADN et les protéines.
- Une matrice d'ADN (mono ou bicaténaire).
- Une amorce d'ADN ou d'ARN ayant une extrémité 3'OH libre.
-

2) Activités des ADN polymérases :catalyse

Les ADN polymérases ont des activités bien spécifiques :

- Une **activité polymérasique 5' vers 3'** qui est leur activité principale.

- Une **activité exo-nucléasique** qui correspond à la dégradation d'une des extrémités du brin néo-synthétisé de l'ADN lors de la réplication et qui peut être de 2 types :
 - De 3' vers 5', L'activité exo-nucléasique 3' vers 5' de l'extrémité 3'OH permet le **proofreading**, qui correspond à la correction d'un mauvais appariement de base en cassant la liaison phosphodiester et en remplaçant le nucléotide mal apparié.
 - De 5' vers 3', de l'extrémité 5'phosphate, lors de la jonction des segments d'ADN synthétisé sur le brin retardé .

3) ADN polymérases procaryotes dans la réplication sont de 3 types

- Les **ADN polymérases I** (ou **enzyme de Kornberg**) Elles présentent l'activité polymérasique 5' vers 3' ainsi que les activités exo-nucléasique 5' vers 3' et 3' vers 5'. La vitesse de synthèse des ADN polymérase I est faible (20 nt/s).
- Elles sont utilisées dans la réparation de l'ADN ainsi que pour combler les brèches laissées par l'ADN polymérase III.
- Les **ADN polymérases III** (ou **enzyme cœur**) sont des multimères hétérogènes de gros poids moléculaire qui sont responsables de la synthèse des fragments longs de l'ADN, ayant une vitesse de synthèse rapide (environ 1000 nt incorporés/s) ainsi qu'une grande processivité (105 nt/évènement). Elles présentent les activités polymérasique 5' vers 3' et exo-nucléasique de 3' vers 5' mais pas exo-nucléasique de 5' vers 3'.

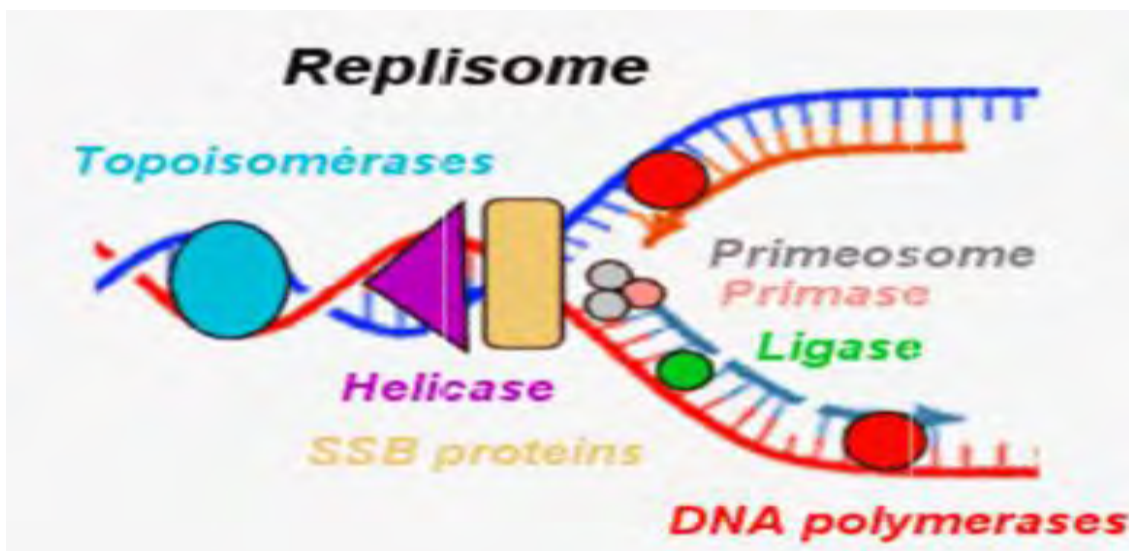
VI) Mécanismes de la réplication procaryote chez E-Coli

La synthèse doit respecter certaines propriétés : les deux fourches réplcatives doivent migrer dans des sens opposés, la synthèse de l'ADN se fait dans la direction 5' vers 3' et ainsi le brin matriciel est lu de 3' vers 5', les deux brins de l'ADN sont antiparallèles et synthétisés simultanément.

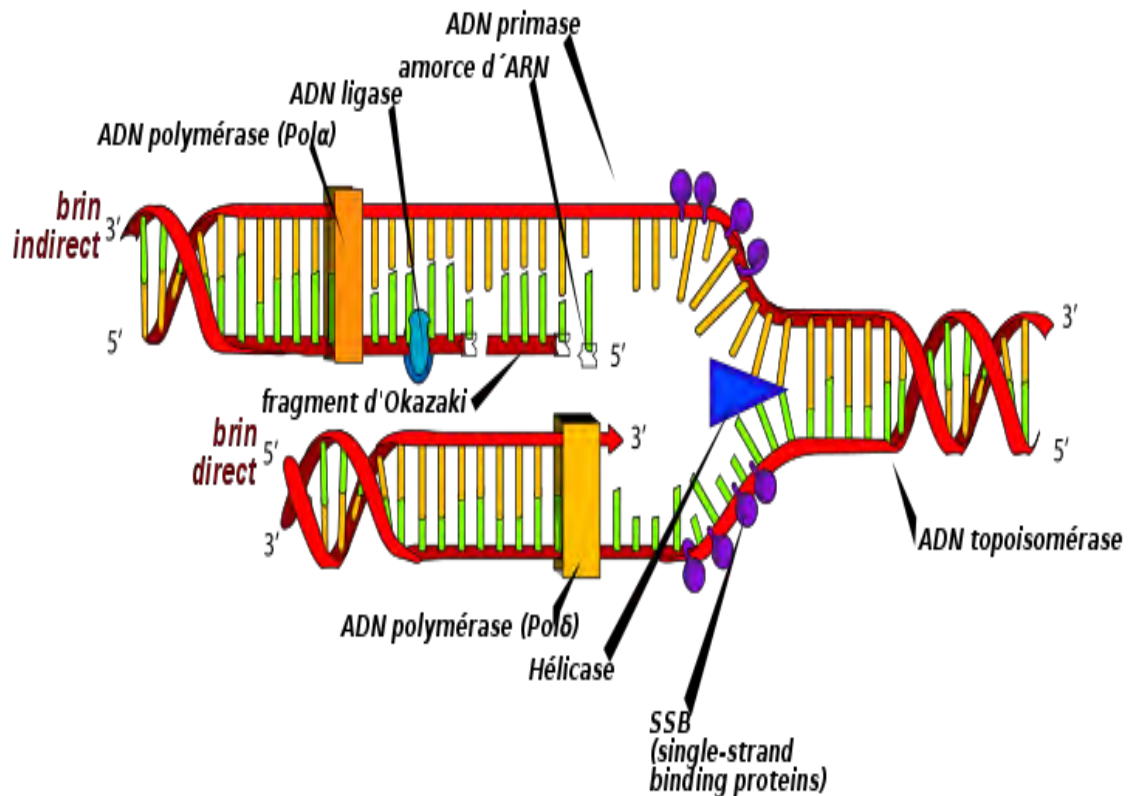
1) Les différentes protéines mise en jeu

- Les **protéines de reconnaissance** reconnaissent les sites d'initiation et de terminaison.

- Les **hélicases** (ou DNA B) déroulent la double hélice par rupture des liaisons hydrogènes présentes entre les deux brins de l'ADN, avec consommation d'**ATP**.
- Les **protéines SSB** (pour *single stranded binding protein*) ont une forte affinité pour l'ADN simple brin et l'empêche ainsi de se réenrouler lors de la migration des fourches répliquatives.
- La **primase** est une ARN polymérase ADN dépendante qui synthétise l'amorce.
- Les **topo-isomérases** relâchent les contraintes de torsion de l'ADN,



- Les **ADN ligases** (ou DNA G) catalyse la formation de la liaison phosphodiester,



2) Origines et terminaisons chez E-Coli

L'origine de réplication possède une séquence répétée de 13 pnb riche en thymine (T), ainsi qu'une séquence GATC présente une dizaine de fois.

Le terminateur mesure environ 350 kb et est composé de 7 séquences quasi identiques de 23 pnb.

3) Les étapes de la réplication procaryote

- Ouverture de la double hélice et formation de la fourche réplivative est permise par reconnaissance de l'origine de réplication par les **DNA A**. Les topoisomérases relâchent les contraintes topologiques
- L'ouverture de l'ADN entraîne la formation de l'œil de réplication et des deux fourches de réplication.
- Les hélicases (DNA B) permettent le déroulement des deux brins ;

- les topo-isomérases, permettent d'enlever les contraintes essentielles à l'avancée de l'hélicase.
- D'autre part les protéines SSB protègent les ADN simples brins les empêchent de se réenrouler.
- **Elongation du brin précoce dans le sens de déplacement de la fourche** : Le brin matrice au brin précoce est lu dans le même sens 3' vers 5'. Au niveau de l'origine de réplication les ADN polymérases nécessitent une amorce qui sera mise en place par les primases. Cette amorce sera ici de l'ARN. L'ADN polymérase III sera responsable de l'initiation et de l'élongation du brin précoce.
- **Elongation du brin tardif dans le sens inverse du déplacement de la fourche** : Le brin matrice pour le brin tardif doit également être lu dans le sens 3' vers 5', donc l'ADN polymérase III qui sera également responsable de l'élongation du brin tardif. De cette manière sa synthèse sera segmentée en fragments de taille relativement constante. Ces fragments sont appelés **fragments d'Okasaki**. A chaque segment il y a recrutement d'une primase pour la synthèse d'une amorce d'ARN constitué de 10 à 50 nucléotides selon l'espèce. Les amorces vont être détruites par des protéines à activité ribonucléasique telles que des RNases, et l'ADN polymérase I va compléter la brèche entièrement. La dernière liaison phosphodiester entre l'extrémité 5' du premier fragment et l'extrémité 3' du deuxième fragment, ce qui correspond à l'épissage, sera réalisée par la ligase.
- **Terminaison** : Le terminateur est le site de fixation de protéines « Tus » qui reconnaît les régions Ter. Chez E-Coli, la partie entre les deux terminateurs n'est d'abord pas répliquée, les deux ADN circulaires sont ainsi associés, on utilise alors la topo-isomérase II pour les dissocier. L'ADN polymérase I complètera ensuite les parties non répliquées.

4) **Régulation de la réplication chez E-Coli**

- **Méthylations des séquences GATC au niveau de l'origine de réplication** : L'initiation de la réplication nécessite la méthylation des séquences GATC sur les

deux brins par la protéine **Dam** (pour DNA adénine méthylase). L'hémi-méthylation bloque la réinitiation.

- **Rôle de la DNA A** : L'accumulation de Dna A induit l'initiation de la réplication.

Le promoteur de Dna A contient aussi des séquences *GATC*.

VII) La réplication eucaryote

1) Les ADN polymérases eucaryotes

L'ADN polymérase γ est présente dans les mitochondries mais est codée par un gène nucléaire. Elle est impliquée dans la réplication de l'ADN mitochondrial (16000 pdb) qui L'ADN polymérase α a une fonction de primase. Les ADN polymérases δ et ϵ sont responsables de la réplication du brin précocé et des fragments d'Okasaki. L'ADN polymérase δ est très processive en présence de PCNA et l'ADN polymérase ϵ est très processive même en absence de PCNA. Le **PCNA** (ou *proliferating cell nuclear antigen*) est une molécule qui augmente fortement la processivité

2) Les télomères

Les chromosomes raccourcissent à chaque division cellulaire. Si l'extrémité des chromosomes était libre il y aurait perte de matériel génétique. Les chromosomes présentent ainsi ce qu'on appelle des **télomères** dont leur taille et leur nombre de réplication (qui sont reliés l'un à l'autre) sont très importants. En effet lorsque le télomère disparaît, la cellule meurt par apoptose. Le télomère est formé grâce à des télomérases qui sont des ribonucléoprotéines pouvant s'associer à des séquences répétées spécifiques de l'extrémité du chromosome. Les télomérases jouent le rôle de matrice pour les ADN polymérases qui synthétiseront les télomères.

Les télomères ont différents rôles : maintenir l'intégrité des informations génétiques, protéger les ADN vis-à-vis des exo-nucléases, éviter les fusions des chromosomes au niveau des extrémités, rôle dans l'organisation de la chromatine durant l'interphase par interaction avec la membrane nucléaire.

Attention, les télomérases ne sont pas actives dans les cellules différenciées.

VIII) La réplication du matériel génétique des rétrovirus

Les rétrovirus sont des virus à ARN monocaténaire dont le génome passe au cours du cycle viral, par une intégration sous la forme d'ADN, dans le génome de la cellule hôte. Le plus connu de ces rétrovirus est virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ou **virus du SIDA**.

La réplication du matériel génétique des rétrovirus permet ainsi le passage d'une ARN simple brin à un ADN double brin et ceci grâce à 3 principales enzymes :

- Une **ADN polymérase ARN dépendante**, qui n'est autre que la **transcriptase inverse** responsable de la transcription reverse de l'ARN virale. Elle a la caractéristique de synthétiser dans la direction 5' vers 3', et nécessite une amorce, une matrice, ainsi que les désoxyribonucléosides triphosphate ; elle ne présente par contre pas d'activité exo-nucléasique 3' vers 5'.
- Une **RNase** responsable de la lyse de l'ARN virale.
- Une **ADN polymérase ADN dépendante** responsable de la formation de l'ADN double brin qui sera intégré dans le génome de la cellule hôte.

Réparation de l'ADN

Face aux différents dommages de l'ADN la cellule a dû mettre en place deux types de protection : les mécanismes de sauvegarde (et les mécanismes de réparation de l'ADN).

Après réparation il y aura une mutation pour 10⁹ nucléotides.

I) Mutations : altérations de l'information génétique

La **mutation** est une modification héritable de la séquence du génome d'un organisme. Le **phénotype** correspond à l'ensemble des caractères observables de l'individu.

Les mutations peuvent être transmises à la descendance si elles se réalisent dans des génomes de cellules germinales. Les mutations de cellules somatiques entraînent des modifications au sein même de l'individu.

Ces mutations permettent l'évolution de l'espèce, mais malheureusement elles sont responsables d'un grand nombre de maladies

1) Additions ou délétions de bases

Les additions et les délétions de bases, à des ajouts ou pertes de bases. Si l'addition ou la délétion de nucléotides n'est pas un multiple de 3, il y aura décalage du cadre de lecture (*frame-shift*).

il y aura addition ou délétion d'acides aminés au niveau de la protéine finale.

2) Substitutions de bases

deux types : transition ou transversion de base.

- La **transition** correspond au remplacement d'une purine par une purine ou d'une pyrimidine par une pyrimidine. Ainsi une paire de bases A-T est remplacée par une paire de bases G-C.
- La **transversion** correspond au remplacement d'une purine par une pyrimidine et inversement

Les mutations entraînant le changement d'acides aminés sont des **mutations faux-sens**. Lorsque la mutation n'entraîne pas de modification d'acides aminés, on parle de **mutation silencieuse**.

Lorsque la substitution entraîne l'apparition d'un codon stop (UAA, UGA et UAG), la mutation est une **mutation non-sens**.

II) Lésions ou dommages de l'ADN

Les lésions sont soit endogènes, soit provoquées par des agents pathogènes (ou mutagènes) qui peuvent être physiques ou chimiques.

Les agents mutagènes physiques correspondent aux rayonnements X ou γ , aux rayonnements UV et à la chaleur.

Les agents mutagènes chimiques sont essentiellement sous la forme de radicaux super-oxydes (O_2^-).

1) Lésions endogènes sans agents exogènes

Ces lésions sont ponctuelles. On observe :

- **Des mauvaises incorporations de bases**
- **Des dépurinations et dépyrimidations** qui correspondent à des pertes de bases par hydrolyse de la liaison β -N-glycosidique
- **Des désaminations** qui correspondent à des pertes de groupement amine sur les bases C, A et G.
- **Des erreurs de méthylations**, les méthylations, participent à l'expression du gène et se réalisent souvent au niveau des îlots CpG. Les erreurs de méthylations donnent des alkylations sur le carbone C6 au lieu du carbone C5 entraînant des absences de formation de liaisons H entre bases.

2) Lésions provoquées par des agents pathogènes

a) Les lésions dues à des mutagènes physiques :

- **Formation de dimères de Thymine (TpT)** qui correspondent à la formation de liaisons covalentes entre deux Thymine.
- **Ionisation de bases et coupures simple ou double brin de l'ADN** par rupture du D-ribose dus aux rayonnements ionisants : rayons X et rayons γ .
- **Désamination**, en effet les excès de chaleur peuvent également avoir une origine exogène.

b) Les lésions dues à des mutagènes chimiques :

- **Formation de lésions oxydatives** par des ERO (espèces réactives oxygénées) qui peuvent être exogène ou endogène. **Addition de molécules exogènes** qui créent également des distorsions de l'ADN. On compte les aflatoxines, les benzantracènes, les agents alkylants, les agents intercalants, le cis-platine ...

III) Mécanismes de réparation procaryote (E-Coli)

1) Mécanismes prenant place en dehors de la période de réplication

a) Réparation par réversions des lésions :

Ce type de réparation utilise très peu de protéines et restore immédiatement les liaisons.

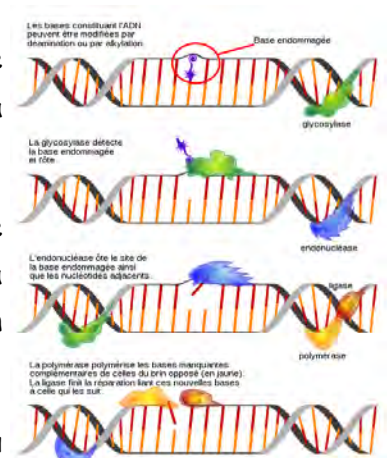
- **Photo-réactivation** : les photolyases participent à la réparation de l'ADN par coupure des liaisons covalentes au niveau des dimères de thymine.
- **Réversion de coupure simple brin** : par une ADN ligase lorsqu'il n'y a pas de pertes de bases.
- **Réversion de dépurination par une purine insertase** : restore la liaison osidique, enzyme spécifique d'une base.

b) Réparation par excision de base (système BER) :

Ce mécanisme est présent chez les procaryotes et les eucaryotes . Le système BER permet l'élimination des bases anormales et la réparation du site AP.

L'**ADN glycosylase** coupe la liaison N-glycosidique entre la base anormale et le désoxyribose, entraînant l'apparition d'un site AP. Il y a uniquement extraction de la base sans coupure de liaison phosphodiester.

Une endonucléase 3'-5' coupe la liaison phosphodiester adjacente au site AP, l'ADN-polymérase I enlève le site AP et synthétise le morceau d'ADN manquant, puis l'ADN-ligase met en place la liaison Phosphodiester manquante.

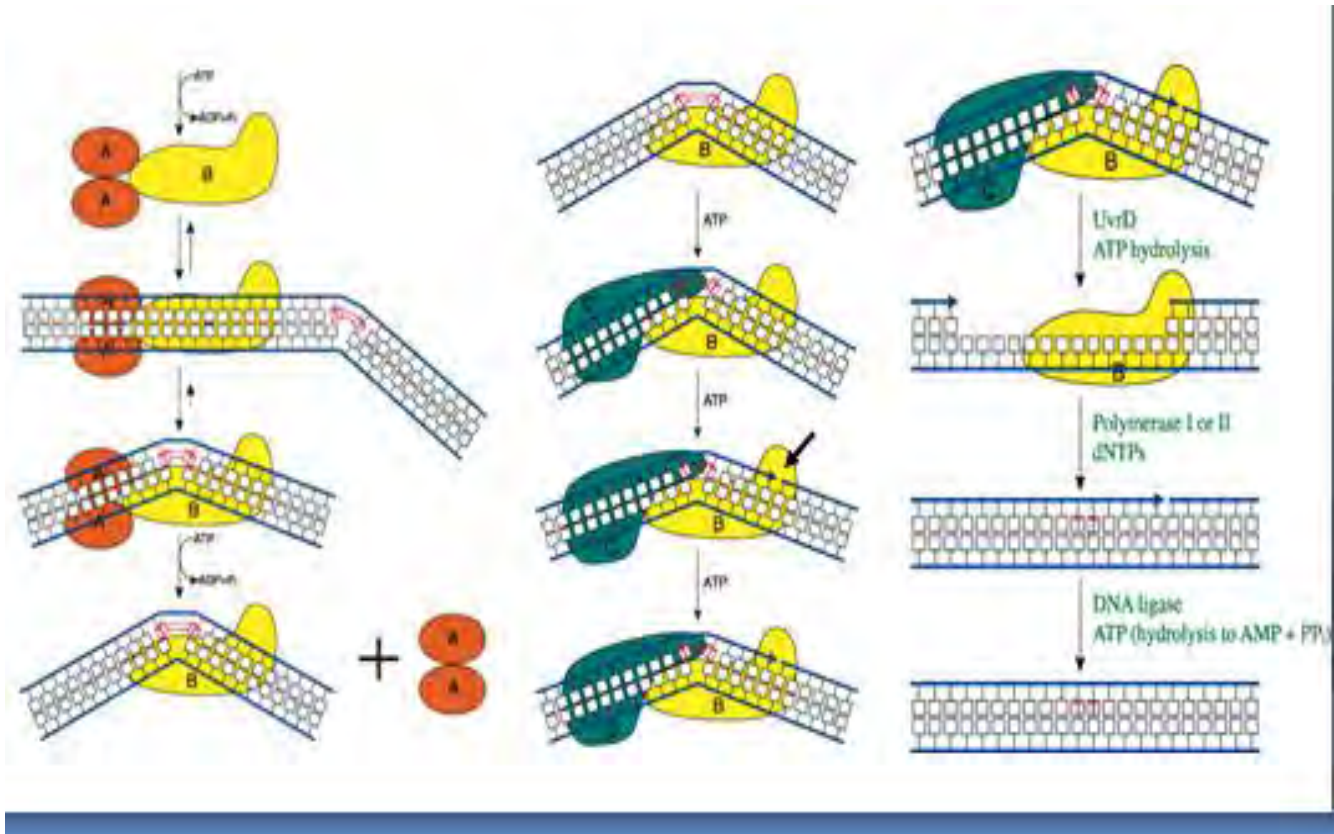


Production Mariana RUIZ (LadyofHats) -
Traduction Berru

c) Réparation par excision de nucléotides (système NER) :

Ce mécanisme est présent chez les procaryotes et les eucaryotes et permet la réparation de plusieurs nucléotides. Il prend également en compte une endonucléase 3'-5', l'ADN-polymérase I et l'ADN-ligase.

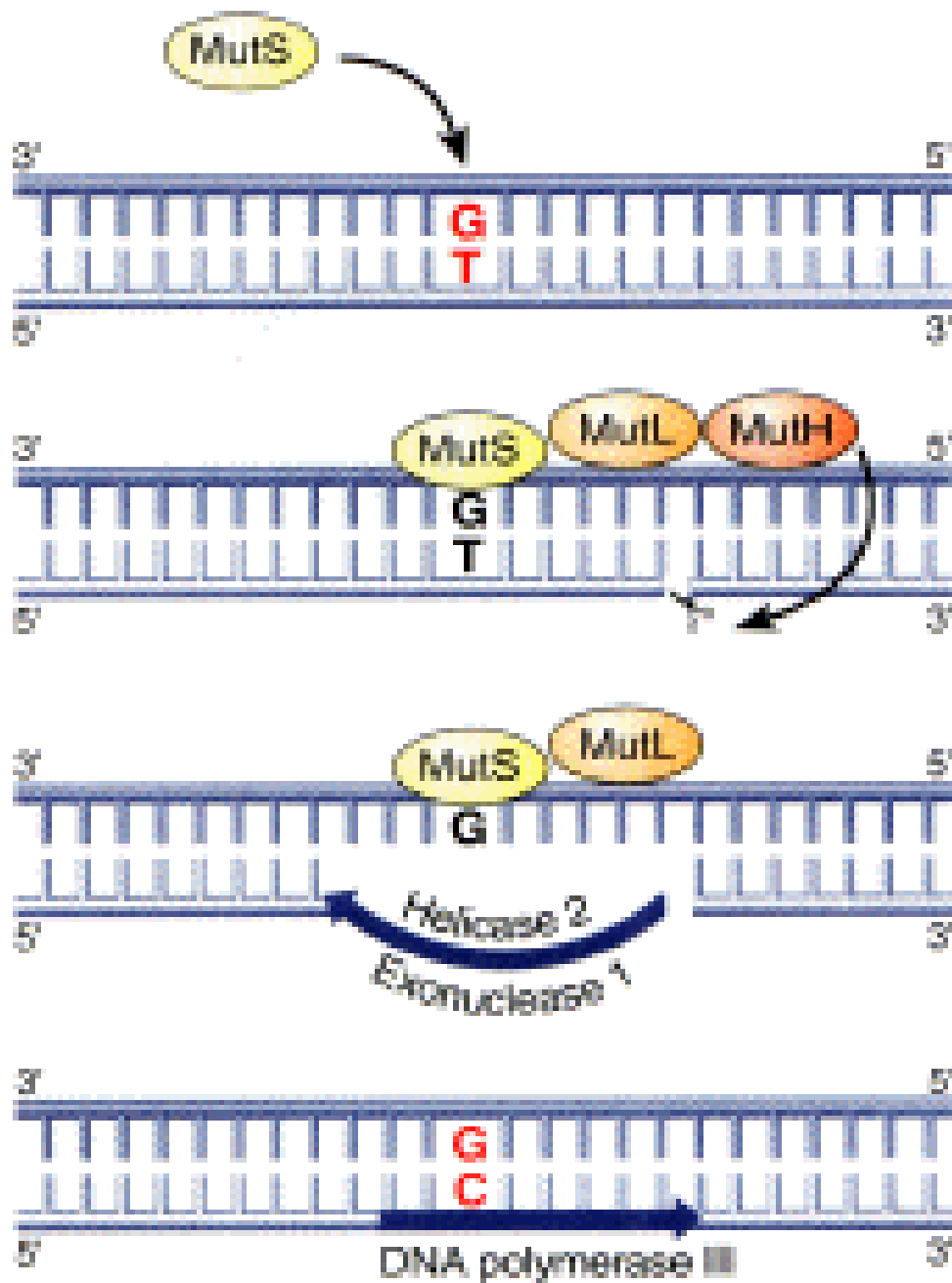
Le système NER correspond au mécanisme de réparation par les UV (UVr). Le complexe UVr A, B, C, D reconnaît les distorsions de l'ADN.



2) Mécanismes de réparation liés à la période de réplication

a) Réparation de mésappariements par le système Mut HLS

Ce mécanisme est également présent chez les procaryotes et les eucaryotes et est post-réplcatif. Il permet la réparation des erreurs d'appariement entre les chaînes d'ADN après la réplication ainsi que les petites délétions ou additions. Le mécanisme Mut HLS nécessite la reconnaissance du brin néosynthétisé de l'ADN grâce aux méthylations des adénines du brin anciennement synthétisé de l'ADN, ceci permettant la distinction entre les deux brins. Une endonucléase rompt ensuite le brin néosynthétisé et la partie portant la lésion est éliminée.



b) Réparation par recombinaison

La réparation par recombinaison correspond à la **synthèse translésionnelle (TLS)** qui consiste à poursuivre la réplication de l'ADN au niveau d'une lésion du brin matriciel de l'ADN ne permettant aucun appariement. Elle se réalise en même temps que la réplication.

3) Le système SOS chez E-coli

Le système SOS regroupe un ensemble de gènes (env. 30) qui est impliqué dans la réplication de l'ADN, dans la réparation de l'ADN et dans la division cellulaire et dont l'expression est contrôlée par une altération de l'ADN.

Le système SOS fonctionne comme un système de type opérateur, on se trouve face à deux états, qui utilisent ou non les protéines **Rec A** qui sont les protéines clé de la recombinaison procaryote :

- Un **état non induit**, sans Rec A
- Un **état induit**, avec Rec A qui est toujours présent dans la cellule mais en petites quantités.

Les différents gènes participant au système SOS forment un **régulon** qui est un groupe de gènes dont l'expression est contrôlée par une même protéine.

IV) Mécanismes de réparation eucaryote

Les mécanismes de réparation ont été hautement conservés au cours de l'évolution : le mécanisme de réparation eucaryote a des analogies avec E-Coli.

dans différents types de la réparation : réversion directe du dommage, le système BER, le système NER, la réparation des mésappariements, la réparation par recombinaison.

Chez les eucaryotes il n'y a pas d'équivalent du système;

mais plutôt relocalisation et concentration des protéines de réparation dans des complexes sub-nucléaires.

le génome étant trop compliqué, et ainsi il n'y a donc pas de système de réparation de type SOS (donc pas de protéine de type Rec A).

Transcription de l'ADN

I) Généralités

Le gène (ou **cistron**) est un segment d'ADN qui constitue l'unité d'expression menant à la formation d'un produit fonctionnel qui peut être sous la forme d'ARN ou de polypeptide.

Chez les procaryotes plusieurs gènes peuvent faire partie d'une même unité de transcription, on parle d'unité **polycistronique** dont l'exemple le plus classique est l'opéron lactose (cf. chapitre de régulation de l'expression des gènes).

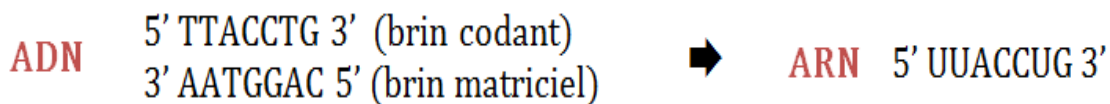
Chez les eucaryotes les unités de transcription sont **monocistronique** (exception chez certains vertébrés).

Les gènes eucaryotes sont départagés dans 3 classes :

- Les **gènes de classe 1** ont comme produits des ARNr. Ils sont répétés en tandem et séparés par des espaces inter-géniques.
- Les **gènes de classe 2** ont comme produits des protéines.
- Les **gènes de classe 3** ont comme produits des ARNt, les ARNr 5S et les petits ARN

II) Transcription de l'ADN procaryote

L'ARN polymérase est une protéine ADN dépendante, multimérique possédant les sous-unités α , β , β' et σ . Elle est présente sous deux formes l'**enzyme-cœur** ($\alpha 2 \beta \beta'$) et l'**holoenzyme** ($\alpha 2 \beta \beta' \sigma$). Les ARN polymérases ne nécessitent pas d'amorce et ne possèdent pas d'activité exo-nucléasique



Chez E-coli, **une seule ARN-polymérase catalyse la synthèse de tous les ARN** de la cellule (en mettant à part l'ARN des amorces nécessaire à la réplication de l'ADN).

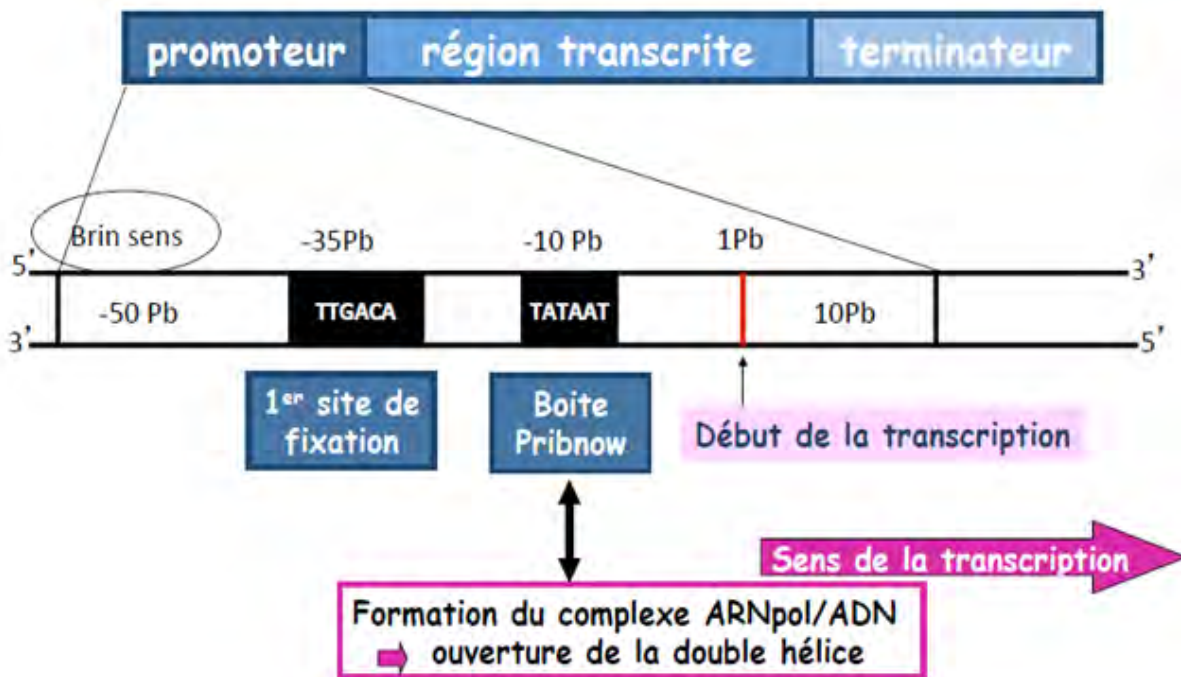
La transcription est divisée en plusieurs étapes : la pré-initiation, l'initiation, l'élongation et la terminaison.

1) Pré-initiation

Le promoteur situé dans la région régulatrice désignant le début de la transcription, situé en amont du site d'initiation porte des éléments de séquence reconnus par l'ARN-polymérase.

Le promoteur est constitué de séquences conservées appelées séquences consensus :

- En -10 du site d'initiation on trouve la **TATA box** ou **boîte de Pribnow** : « TATAAT »
- En -35 du site d'initiation on trouve : « TTGACA »



Le promoteur agit sur la transcription du segment d'ADN qui lui est adjacent sur le même chromosome, on dit que le promoteur est actif en « cis ».

La **sous-unité sigma** σ permet donc une reconnaissance spécifique du promoteur par l'ARN-polymérase après l'initiation faite, le facteur sigma se détache pour être recyclé et réutilisé pour d'autres initiations de gènes.

2) Initiation

L'initiation correspond à la synthèse de la première liaison phosphodiester réalisé par la sous-unité β qui correspond à la sous-unité catalytique de l'ARN-polymérase.

L'interaction de cette sous-unité est inhibée par la **rifampicine** qui inhibe ainsi de manière irréversible la transcription de l'ADN, c'est le cas de la tuberculose. Une mutation dans la SU β induit l'apparition de souches bactériennes résistantes à la rifampicine.

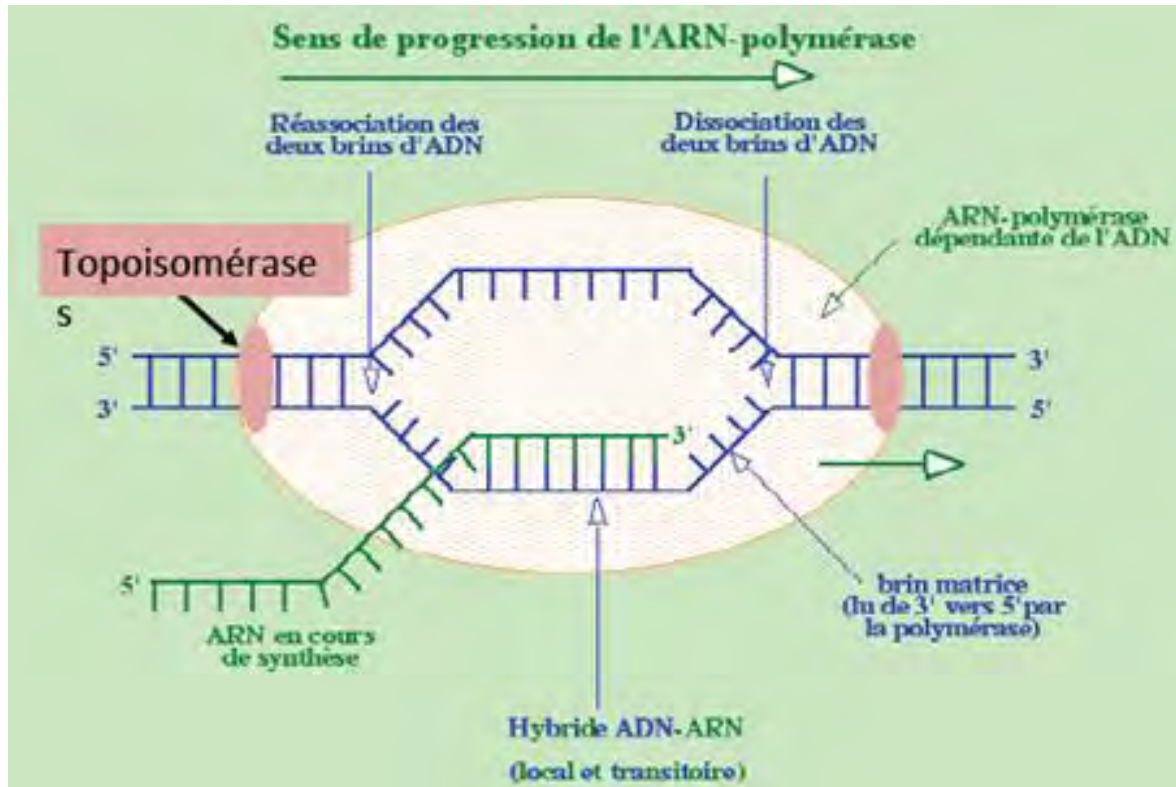
Le déroulement des premières étapes de la transcription est donc :

1. liaison non spécifique de l'holoenzyme.
2. formation d'un complexe fermé au niveau du promoteur
3. formation du complexe ouvert (déroulement sur 14 nucléotides)
4. Mise en place du premier nucléotide (très souvent A ou G)
5. Allongement de 4 à 5 nucléotides
6. Détachement du facteur sigma, après la transcription des 4-5 premiers nucléotides.

3) Elongation

L'élongation correspond au déplacement de la bulle de transcription le long de la molécule d'ADN. La région désappariée est alors de 70 paires de bases. Pendant la transcription, l'ARN forme un court appariement avec le brin matriciel de l'ADN formant une hélice hybride ADN-ARN sur une dizaine de paires de bases.

L'élongation est inhibée par des aminosides ou amino-glucosides.

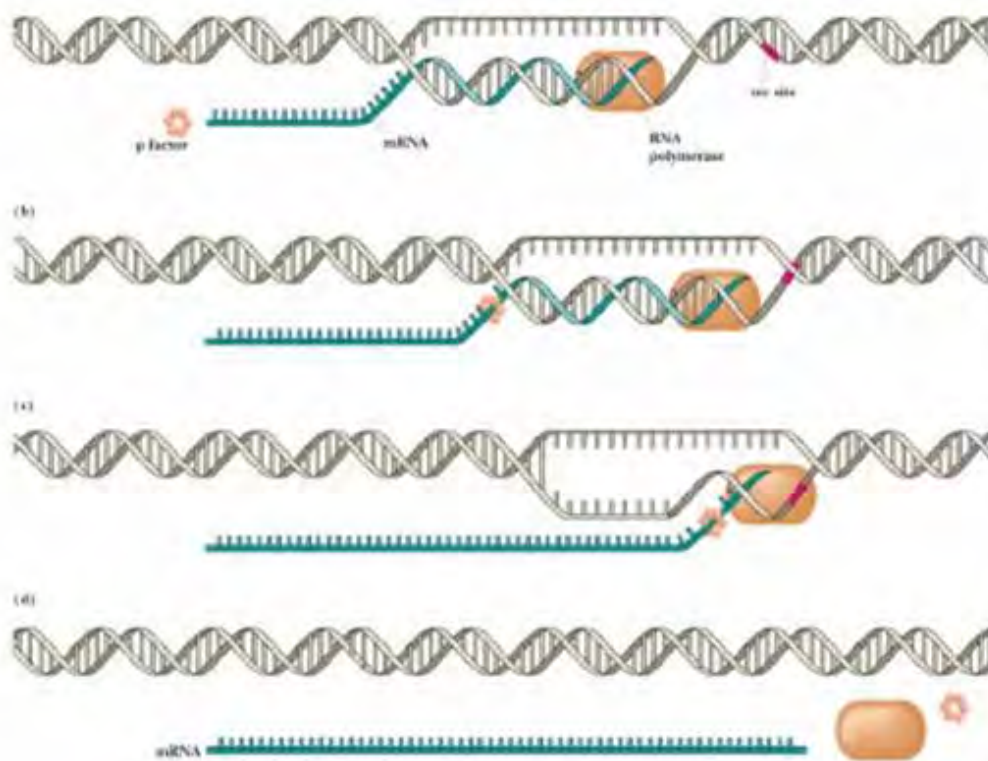


4) Terminaison

La terminaison se fait lorsque l'enzyme arrive au niveau d'une séquence spécifique appelée **terminateur**.

Le terminateur se présente sous la forme d'un **palindrome**. Ce palindrome entraîne une complémentarité de séquence au niveau de l'ARNm qui permet la mise en place d'une structure en épingle à cheveux qui déstabilise l'ARN-polymérase jusqu'à dissociation.

Elle peut être facilitée par un **facteur rho** ρ suivant la séquence du terminateur, on met ainsi en évidence des **terminateurs rho indépendant** (environ les 2/3)



Saunders College Publishing

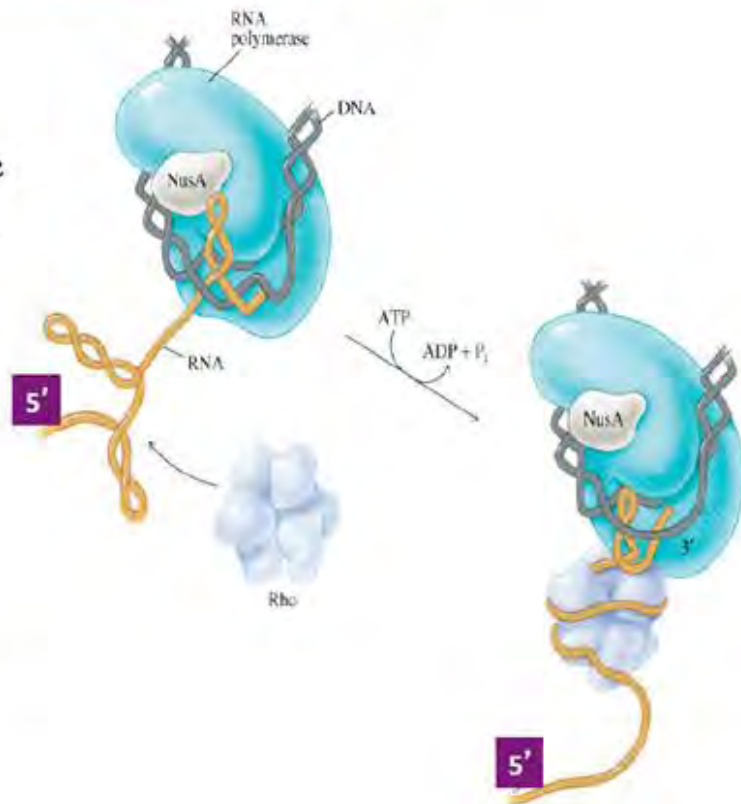
et des **terminateurs rho dépendant** (environ 1/3)

Terminaison rho-dépendante: Facteur Rho:

- Hélicase ATP dépendante
- **Fixation** à l'extrémité 5' de l'ARNm, **migration** le long de l'ARN, localise le complexe pol-ARN et le **déroule**



Libération de l'ARN nouvellement synthétisé



5) Maturation des transcrits primaires

Le transcrit primaire code soit pour un produit, on parle d'**ARN monocistronique**, soit plusieurs produits, on parlera alors d'**ARN polycistronique**

III) Transcription de l'ADN eucaryote

1) Les ARN-polymérases eucaryotes

Trois ARN-polymérases eucaryote ont été mis en évidence. Elles diffèrent par leur localisation dans le noyau, par la nature des ARN formés et de par leur sensibilité à des inhibiteurs tels que l' α -amanitine.

- ARN-polymérase I dans le nucléole pour les ARNr 5,8 ; 18 et 28 S, et est insensible à l' α -amanitine

- ARN-polymérase II dans le nucléoplasme pour les ARNm et est sensible à l' α -amanitine
- ARN-polymérase III dans le nucléoplasme pour les ARNt, ARNr 5 S et pour les petits ARN, elle est également sensible à l' α -amanitine mais à hautes doses.

L' **α -amanitine** se fixe sur certaine sous-unité de l'ARN-polymérase et inhibe l'élongation de la transcription.

L'**actinomycine D** inhibe la transcription eucaryote et procaryote en s'intercalant entre certaine base de l'ADN pendant l'élongation.

2) Différence dans la transcription eucaryote

a) Complexe protéique nécessaire à la transcription

L'ARN-polymérase II n'étant pas suffisante pour démarrer la transcription, elle nécessite d'autres protéines interagissant avec l'ADN du promoteur, appelées **TFII** (pour *transcription factor II*, facteurs de transcriptions interagissant avec l'ARN-polymérase II) :

- **TFII D** interagit avec l'ADN du promoteur et plus spécifiquement à la TATA box lorsqu'elle existe.
- **TFII A** interagit avec l'ADN en amont de la TATA box.
- **TFII B** interagit avec l'ADN en aval de la TATA box au niveau du site d'initiation.
- **TFII F** agit lors de l'élongation.
- **TFII H** possède une activité hélicase, une activité de réparation de l'ADN dans le système NER et une activité kinase qui sert à phosphoryler l'ARN-polymérase II au niveau de son **domaine C-terminal (CTD**, pour carboxy-terminal domain) nécessaire à l'activation de la transcription. Une déphosphorylation est nécessaire pour permettre une nouvelle pré-initiation. L'extrémité CTD est formée par un enchaînement de sérine pouvant être phosphorylée.

b) Promoteur minimum et régions régulatrices

Les séquences consensus sont plus nombreuses que chez les procaryotes, on trouve :

- La **TATA box** (= **boîte de Hogness**) entre -30 et -25, elle est présente dans environ 80% des promoteurs.
- L'**INR box** à partir du +1 et présente dans environ 60% des promoteurs.
- La **GC box**
- La **CAAT box**

Le promoteur eucaryote est une structure modulaire. La TATA box et à l'INR box forme le promoteur minimum au niveau duquel se fixe l'ARN-polymérase II via les facteurs généraux de transcription.

On trouve en plus des séquences activatrices et amplificatrices jusqu'à -200 en amont du site d'initiation ; parmi elles on trouve la GC box et la CAAT box.

Ces boîtes constituent les sites de fixation des facteurs de transcription et permettent ainsi la modulation de l'activité du promoteur minimum.

Le terminateur au niveau de l'ARN est constitué de la séquence CPSF (AAUAAA) suivie par un site de poly-adénilation 20 nucléotides en aval,

3) Les régions cis-régulatrices

a) Les séquences amplificatrices de type enhancers :

Les enhancers fixent des protéines qui vont permettre l'amplification de l'expression des gènes de 10 à 100 fois. et sont actifs dans les deux directions.

b) Les séquences extinctrices de type silencers :

Les silencers sont des séquences fixant des protéines qui inhibent l'expression des gènes en agissant à distance.

c) Les séquences isolantes de type insulators :

Les insulators sont des séquences isolantes qui permettent d'isoler certaines régions du génome.

4) Caractéristiques structurales des protéines régulatrices

- Le motif hélice-boucle-hélice
- Les motifs en doigt de zinc
- Les leucines zipper

5) Maturation des transcrits primaires

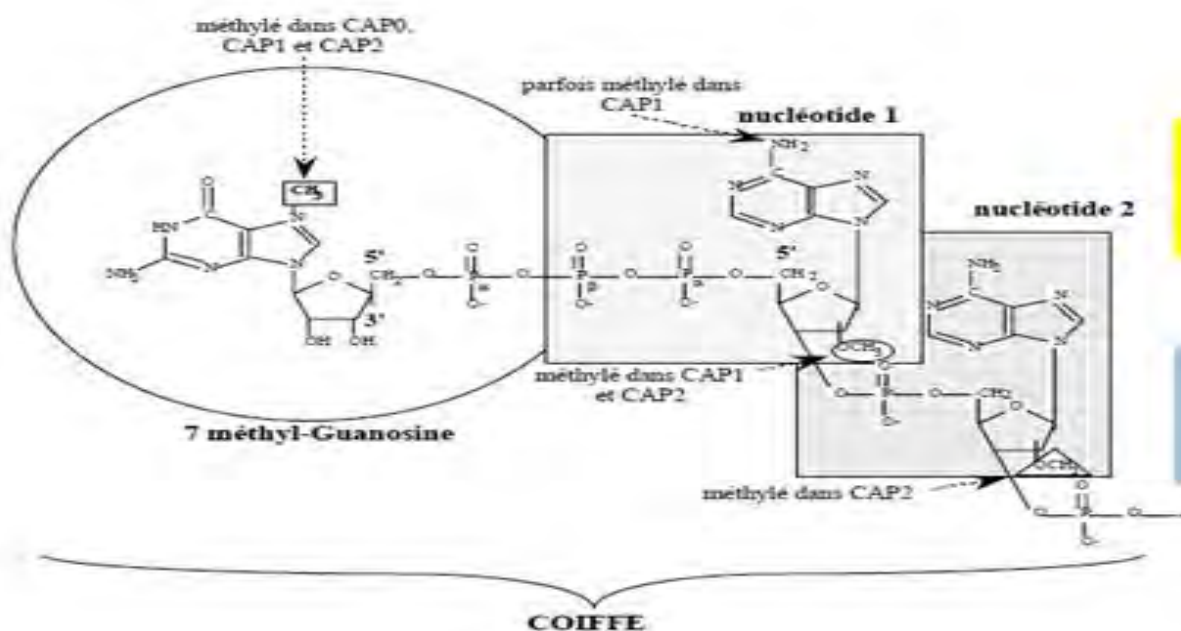
La maturation des transcrits primaires à lieu dans le noyau de la cellule.

On parle de pré-ARNm, pré-ARNr et pré-ARNt.

a) Addition de la coiffe en 5' (ou capping)

La coiffe est ajoutée grâce à un complexe protéique appelé « **Cap-Binding-Complex** » qui possédant une activité triphosphatase, une activité guanylyl-transférase et une

activité méthyl-transférase

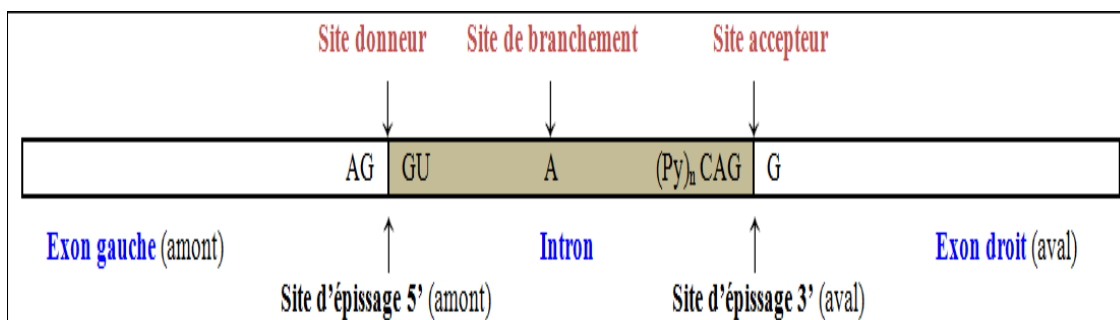


b) Poly-adénilation en 3' par la poly-A polymérase

La poly-adénilation correspond à l'ajout de jusqu'à 200 adénines à l'extrémité 3' du transcrit primaire et ceci sans matrice par la **poly-A-polymérase**.

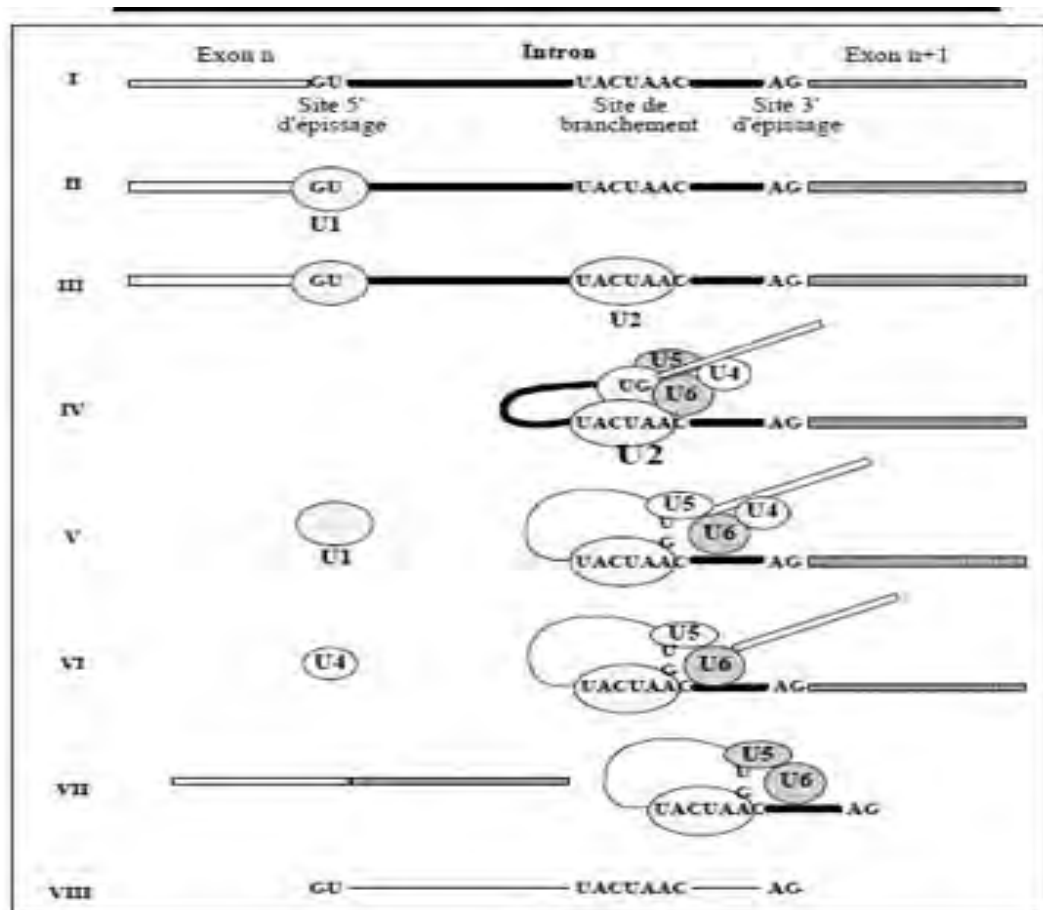
c) Excision des introns et épissage des exons (ou splicing)

Après l'addition de la coiffe et la poly-adénilation, le transcrit primaire est encore soumis à l'excision des introns et l'épissage des exons ; les introns sont ainsi éliminés. Ceci est possible par la présence de **site donneur d'épissage** (dinucléotide GU) à l'extrémité 5' des introns et de **site accepteur d'épissage** (dinucléotide CAG) à l'extrémité 3' des introns.



Les jonctions d'épissage sont reconnues par les **snRNPs** (ou **snurps** pour *Small-Nuclear-Ribonucleo-protein-Particules*). Les snRNP correspondent à l'association de snRNA (snRNA U1, U2, U3, U4, U5, U6) et de protéines et l'ensemble des snRNPs s'appelle le **spliceosome**. Le snRNP U1 reconnaît le site donneur et le snRNP U2 reconnaît le site de branchement et le site accepteur.

- Le groupement 3'OH du premier exon peut ainsi réagir avec l'extrémité 5'phosphate du deuxième exon pour former une liaison phosphodiester et permettre la libération de l'intron qui sera dégradé.



Remarque :

Il existe certains ARN qui possèdent des introns auto-catalytiques qui ne nécessitent ainsi aucune protéine, l'activité enzymatique est portée par l'ARN lui-même, on parle de **ribozymes**.

d) L'épissage alternatif

A partir d'un transcrit primaire on peut avoir deux ou plus ARNm matures qui seront à l'origine de la formation des protéines-isoformes. Ceci est possible grâce à l'épissage

Pathologies liées à un épissage anormal suite à des mutations :

On prendra pour exemple les **β -thalassémies** qui correspondent à des anémies héréditaires transmises sur le mode dominant dues à des anomalies dans la production de l'hémoglobine adulte. Certaines mutations induisent un épissage

anormal du transcrit primaire (au niveau des sites donneurs, sites de branchement ou sites accepteurs).

Traduction de l'ADN

La traduction correspond au fait que l'ARNm est traduit en protéine : passage de séquences de nucléotides à des séquences d'acides aminés par respect du code génétique. La traduction s'effectue dans le cytoplasme de la cellule.

I) Le code génétique

Le code génétique est un code qui permet la conversion d'une séquence de nucléotides (ADN puis ARN) en séquence d'acides aminés (protéines). Le code implique les bases A, C, T et G ainsi que les 20 acides aminés.

Le code génétique possède différentes caractéristiques :

- **Les codons sont des triplets de nucléotides** et ils codent pour un acide aminé.
- **La séquence du gène et la séquence de la protéine codée sont colinéaires**, c'est-à-dire que la longueur du gène et la longueur de la structure primaire de la protéine finale sont proportionnelles.
- **Le code génétique est universel**. En effet chaque acide aminé dispose d'un ou plusieurs codons et ceci au niveau d'une multitude d'organismes vivants procaryote et eucaryote.
- **Le code génétique est redondant (ou dégénéré)**. Plusieurs codons codent pour un même acide-aminé : on trouve 64 codons et 20 acides aminés. Souvent se sont les deux premiers nucléotides du codon qui définissent l'acide aminé, la redondance est donc due au troisième nucléotide du codon.
- **Le code génétique est non-chevauchant**. Les nucléotides d'un codon ne participe qu'au code d'un seul acide aminé, ainsi le prochain acide-aminé sera codé par le prochain codon présent sur l'ARNm. On parle du **cadre de lecture** (ou *reading frame*).
- **Le code possède un système de ponctuation**. Le codon d'initiation est le codon AUG (GUG pour la mitochondrie) et les codons de terminaison sont

les codons UAA (ocre), UAG (ambre) et UGA (opale). Le codon UGA (opale) n'est pas présent au niveau de la mitochondrie.

		2ème base					
		U	C	A	G		
1 è r e b a s e	U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U	3 è m e b a s e
		UUC } Phe	UCC } Ser	UAC } Tyr	UGC } Cys	C	
		UUA } Leu	UCA } Ser	UAA } Stop	UGA } Stop	A	
		UUG } Leu	UCG } Ser	UAG } Stop	UGG } Trp	G	
	C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	U	
		CUC } Leu	CCC } Pro	CAC } His	CGC } Arg	C	
		CUA } Leu	CCA } Pro	CAA } Gln	CGA } Arg	A	
		CUG } Leu	CCG } Pro	CAG } Gln	CGG } Arg	G	
	A	AUU } Ile	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	U	
		AUC } Ile	ACC } Thr	AAC } Asn	AGC } Ser	C	
		AUA } Ile	ACA } Thr	AAA } Lys	AGA } Arg	A	
		AUG } Met	ACG } Thr	AAG } Lys	AGG } Arg	G	
	G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	U	
		GUC } Val	GCC } Ala	GAC } Asp	GGC } Gly	C	
		GUA } Val	GCA } Ala	GAA } Glu	GGA } Gly	A	
		GUG } Val	GCG } Ala	GAG } Glu	GGG } Gly	G	

Remarques :

Le cadre de lecture est défini par le codon d'initiation, ainsi le véritable codon de terminaison sera le premier codon qui sera dans le cadre de lecture imposé par ce codon d'initiation.

Parmi les 64 acides aminés, 3 sont des codons de terminaison ou codon stop les 61 restants sont des codons codant.

II) Les acteurs de la traduction

Les acteurs de la traduction sont l'ARN messager (ARNm), les ARN de transfert (ARNt), les ribosomes, les acides aminés, les amino-acyl tRNA synthétases, le Mg^{2+} , le GTP et l'ATP.

1) Les ribosomes

Les ribosomes sont constitués d'ARN ribosomiques (ARNr) et de protéines et sont structurés sous forme de deux sous-unités chez les procaryotes ou les eucaryotes.

Les ribosomes procaryotes (70S) sont constitués d'une petite sous-unité 30S et d'une grande sous-unité 50S.

- La sous-unité 30S est constituée d'un ARNr 16S et de 21 protéines.
- La sous-unité 50S est constituée des ARNr 23S et 5S ainsi que de 32 protéines.
- Les ribosomes eucaryotes (80S) sont constitués d'une petite sous-unité 40S et d'une grande sous-unité 60S.
 - La sous-unité 40S est constituée d'un ARNr 18S et de 33 protéines.
 - La sous-unité 60S est constituée des ARNr 28S, 5,8S et 5S ainsi que de 49 protéines.

Topographie schématique du ribosome bactérien :

Le ribosome bactérien comporte des sites spécifiques :

- **Site A** : (= site Acide-aminé ou Accepteur) fixation des acides aminés.
- **Site P** : (= site Peptidique ou Donneur) fixation de f-Met.
- **Site E** : (= site Exit) sortie de l'ARN de transfert.
- **Site EF-G** : présent au niveau de la grande sous-unité.
- **Site EF-Tu** : présent au niveau de la petite sous-unité.

L'enchaînement des ribosomes sur l'ARNm forme le **polysome**.

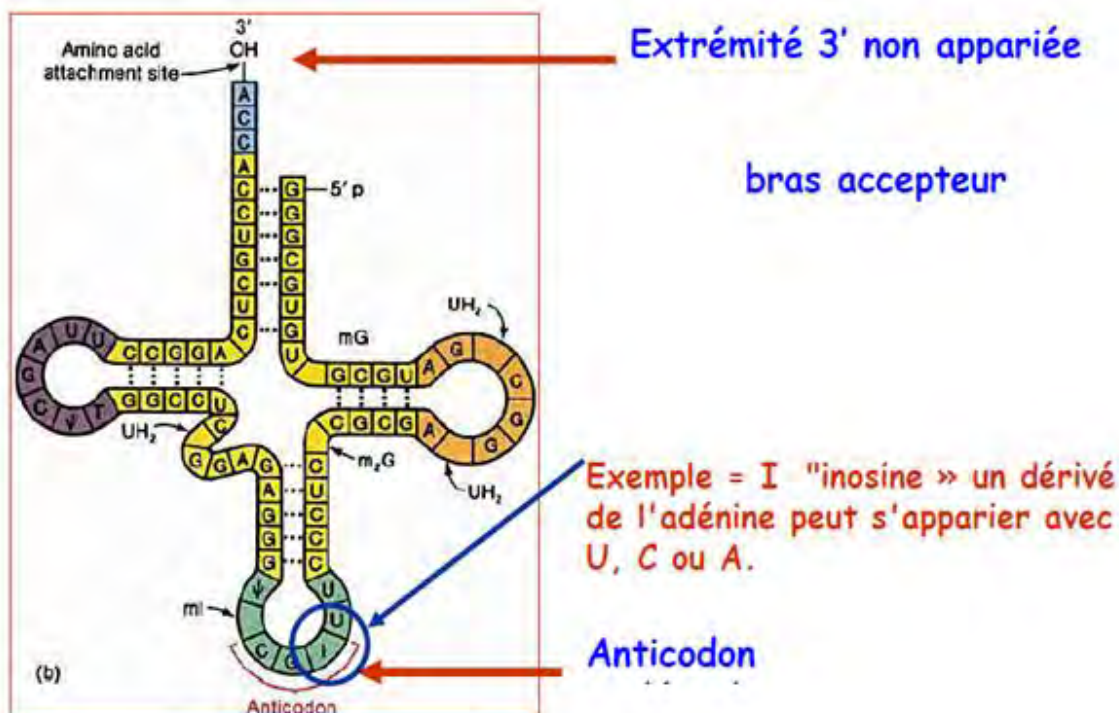
2) Les ARNt

a) Structure des ARNt et ARNt iso-accepteur :

Lors du mécanisme de traduction il y a un appariement antiparallèle entre l'ARNm et l'ARNt : reconnaissance codon-anticodon au niveau de la boucle de l'anticodon.

Il existe une flexibilité dans l'appariement des bases en position 3 du codon et en position 1 de l'anticodon, cette flexibilité s'appelle le **wobble**.

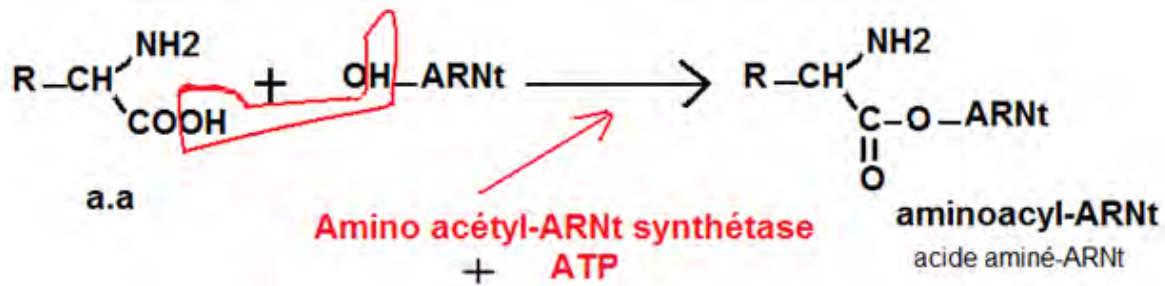
Les ARNt possèdent également un bras de l'acide aminé qui le fixe en 3' (CCA) sur le ribose. On trouve 40 à 60 ARNt différents par cellule, il existe donc plusieurs ARNt différents pour un acide aminé, on les appelle **ARNt iso-accepteurs**.



b) Chargement de l'acide aminé sur l'ARNt :

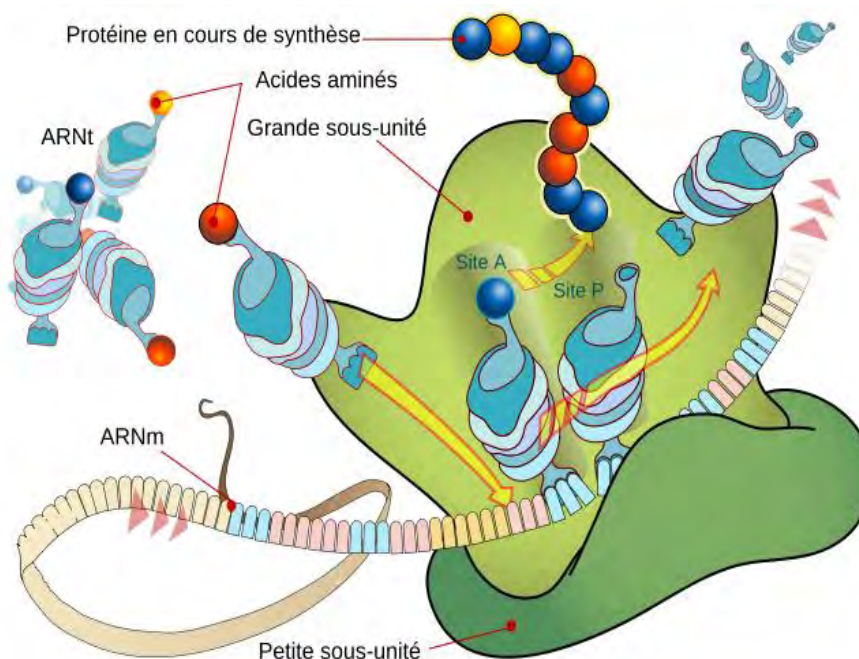
La formation du complexe **amino-acyl-tARN (aa-tARN)** nécessite une **Amino-acyl-tRNA-synthétase** spécifique de l'acide aminé. Le chargement correct de l'ARNt est un élément important dans la fidélité de la traduction.

L'acide aminé (aa) est tout d'abord activé et cette activation nécessite de l'énergie sous forme d'**ATP** pour permettre la formation d'aa-AMP (liaison anhydride mixte)



Les Amino-acyl-tRNA-synthétase sont au nombre de 20 dans la cellule.

III) Les différentes étapes de la traduction procaryote



1) Initiation

Un ribosome reconnaît le début de la séquence codante, il utilise des signaux d'adressage en amont entre -8 et -13 du codon initiateur (AUG) qui correspond à

la **séquence de Shine-Dalgarno** ou **RBS** (**AGGAGG**). Il y a appariement antiparallèle de bases entre l'ARNm et la petite sous-unité (30S) du ribosome.

Les bactéries nécessitent un acide aminé particulier pour l'initiation ; cet acide aminé est la méthionine et elle nécessite une **formylation** sur l'extrémité NH₂ (ajout d'un formyl) pour former la f-Met, c'est un phénomène pré-traductionnel.

L'initiation est permise grâce à la présence de **facteurs d'initiation** (IF pour *Initiation Factor*) :

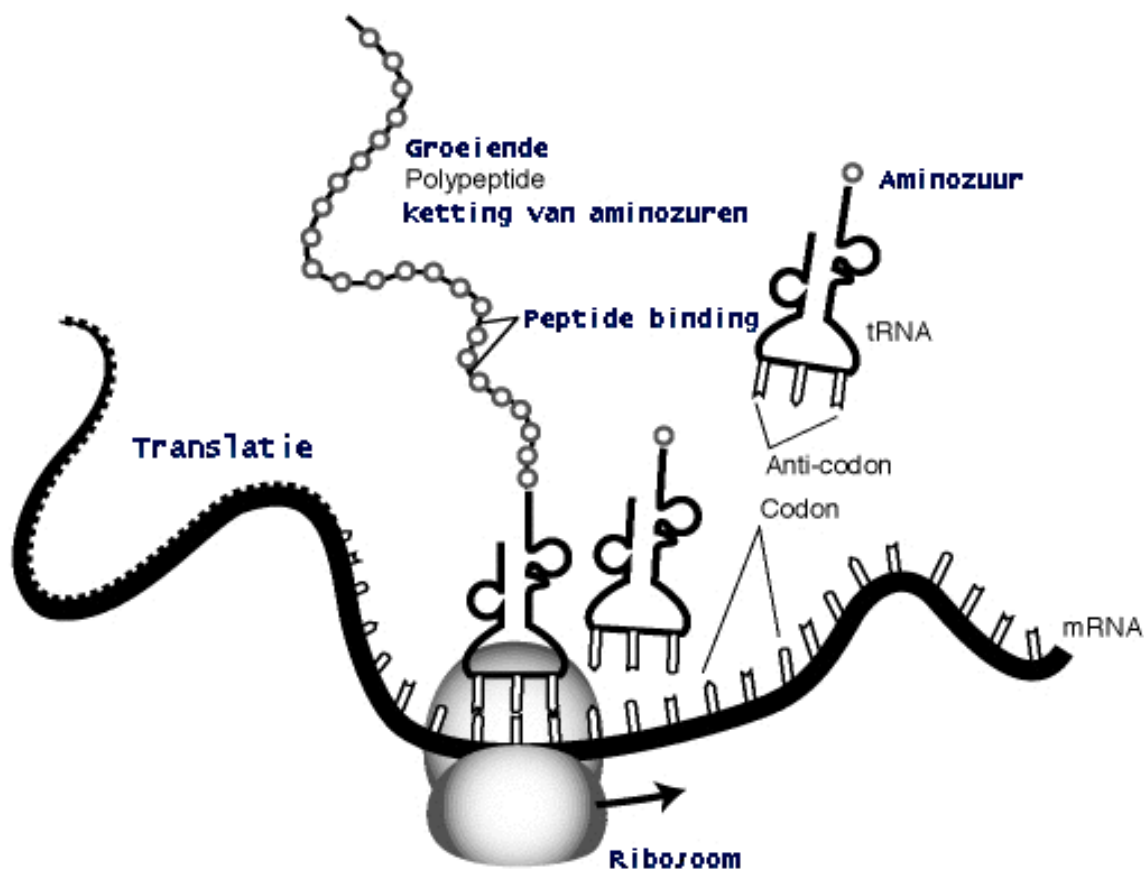
- **IF 1** est le facteur de dissociation du ribosome 70S.
- **IF 2** est un facteur assurant la fidélité de reconnaissance entre l'ARNt et l'acide aminé. Il possède également une activité GTPasique
- **IF 3** est un facteur nécessaire à la fixation spécifique de 30S sur l'ARNm

lorsque l'ARNt fixé à la formyl-méthionine est fixé à la petite sous-unité de l'ARNr, il y a hydrolyse du GTP et la grande SU se fixe sur le complexe.

2) Elongation

L'élongation correspond à une synthèse protéique par ajout d'acides aminés, réaction catalysée par l'activité **peptidyl-transférase** de la grande SU des ribosomes. La lecture de l'ARNm par le ribosome se fait de 5' vers 3'.

L'élongation est permise par la présence de **facteurs d'élongation** (EF pour *Elongation Factor*) : **EF-Tu** ; **EF-Ts** et **EF-G**.



a) Réaction de couplage :

correspond au transfert de l'acide aminé complexé à l'ARNt sur la chaîne protéique en voie d'élongation

Ainsi le deuxième complexe aa-ARNt arrive dans le site A, la f-Met étant positionnée dans le site P.

b) Formation de la liaison peptidique et libération du premier ARNt :

La liaison riche en énergie qui lie le premier ARNt avec la f-Met se rompt amenant l'énergie pour permettre la formation de la liaison peptidique,

La terminaison de la traduction se fait au niveau des codons stop UAA, UAG et UGA qui ne codent pour aucun acide aminé. Ces codons stop sont reconnus par les facteurs de terminaison RF 1, RF 2 et RF 3 (RF pour *Releasing Factor*) :

- **RF 1** reconnaît UAA et UAG.
- **RF 2** reconnaît UAA et UGA.
- **RF 3** stimule l'activité des 2 autres facteurs.

La liaison ester unissant l'ARNt au dernier acide aminé de la chaîne peptidique est hydrolysée par la peptidyl-transférase. Le ribosome se redissocie en deux sous-unités qui pourront recommencer de nouvelles lectures d'ARNm.

La terminaison fait intervenir, tout comme l'initiation, l'hydrolyse d'une molécule de **GTP**.

Remarque :

La traduction bactérienne peut être inhibée par des antibiotiques tels que les aminosides qui inhibent la petite sous-unité ou les macrolides qui agissent au niveau de la grande sous-unité.

IV) Les spécificités de la traduction eucaryote

Le ribosome est de taille différente et composé d'ARN ribosomiques différents bien que la structure générale et l'activité soit comparable.

Le codon initiateur est également AUG et c'est généralement le 1^{er} AUG présent sur l'ARNm. On peut trouver le triplet ATG qui donnera le codon AUG sur l'ADN-sens au niveau de la **séquence de Kozak**(GCCGCC(A/G)CCATGG).

Comme dit précédemment, chez les eucaryotes le premier acide aminé est la méthionine et non pas la f-Met présent chez les procaryotes. La méthionine sera le plus souvent enlevée juste après la synthèse de la chaîne peptidique.

Les facteurs d'initiation sont du type eIF (pour *eukaryotic Initiation Factor*), d'eIF1 à eIF6.

Les facteurs d'élongation sont également du type EF (EF1α, EF1β et EF2).

Les facteurs de terminaison sont du type eRF (pour *eukaryotic Releasing Factor*).

IV- Les antibiotiques inhibiteurs de la traduction

Inhibiteur de l'initiation/ interaction avec le ribosome

Streptomycine → Pas de fixation du f-MET à l'ARNt

Inhibiteur de l'élongation

Tetracyclines → Pas de fixation d' aa-ARNt

Chloramphénicol → Pas de liaison peptidique/ peptidyl-transferase

Puromycine → Analogue d'ARNt qui provoque le largage prématuré de la chaîne peptidique

Erythromycine → Translocation du ribosome sur l'ARNm

V/ BILAN ENERGETIQUE DE SYNTHÈSE

L'énergie consommée au cours du mécanisme de traduction :

- 1 GTP pour l'initiation et fixation ARNt sur 30S
- 1 GTP pour l'incorporation de chaque tRNA- aminoacyl dans le site A
- 1 GTP pour la translocation de chaque codon
- 1 GTP pour la terminaison

Bilan énergétique de synthèse d'une protéine de 100 aa
=
202 GTP et 100 ATP

1 ATP / aa chargé sur l'ARNt adéquat

REGULATION DE L'ADN

La régulation des gènes se fait aux différentes étapes de l'expression (synthèse du produit d'un gène, ARN ou protéines) et permet son activation ou sa répression. La régulation peut être positive grâce à des **activateurs** ou négative grâce à des **répresseurs**.

Au niveau de l'ADN il existe des séquences régulatrices qui peuvent être amplificatrices, extinctrices ou isolantes. Ces séquences régulent les gènes qui leurs sont adjacents sur le même chromosome, on dit que ces séquences sont actives en « cis » et on parle d'**élément cis-régulateurs**. Sur ces séquences vont se fixer des facteurs de régulations, dit **trans-régulateurs**, ne provenant pas de séquences adjacentes mais de l'expression d'un autre gène situé ailleurs sur le génome .

I) Régulation de l'expression des gènes dans la cellule procaryote

1) Au niveau transcriptionnel

La transcription est souvent régulée par des facteurs protéiques qui se lient à l'ADN. Les gènes soumis à ces régulations sont impliqués dans différentes voies métaboliques :

a) Régulation de l'expression des gènes impliqués dans les voies cataboliques

le plus utilisé pour illustrer ce type de régulation, celui de l'**opéron lactose** dans le génome d'E-coli qui est un exemple de **gène inductible** (c'est-à-dire que les gènes sont exprimés quand cela est nécessaire par inactivation d'un répresseur).

L'**opéron** est une unité d'expression et de régulation des gènes bactériens constituée de gènes de structure et d'éléments de contrôle reconnus par le ou les produits des gènes régulateurs . L'opéron possède un promoteur et un **opérateur**.

Au niveau de l'opéron lactose on peut mettre en évidence trois gènes de structures faisant partie d'une même unité de transcription, on parle alors d'**unité polycistronique**. les gènes Lac Z, Lac Y et Lac A, codant pour des protéines différentes.

Le gène **Lac Z** code pour la **β -galactosidase** qui hydrolyse le lactose en galactose et en glucose, le gène **Lac Y** code pour la **β -galactosidase-perméase** qui permet l'entrée du lactose dans les bactéries et le gène **Lac A** code pour la **β -galactoside-transacétylase**.

En absence de lactose on a environ 5 molécules d'enzymes par cellule en présence de lactose on a environ 5000 molécules d'enzymes par cellule, l'augmentation du taux des enzymes (β -galactosidase et β -galactoside-perméase).

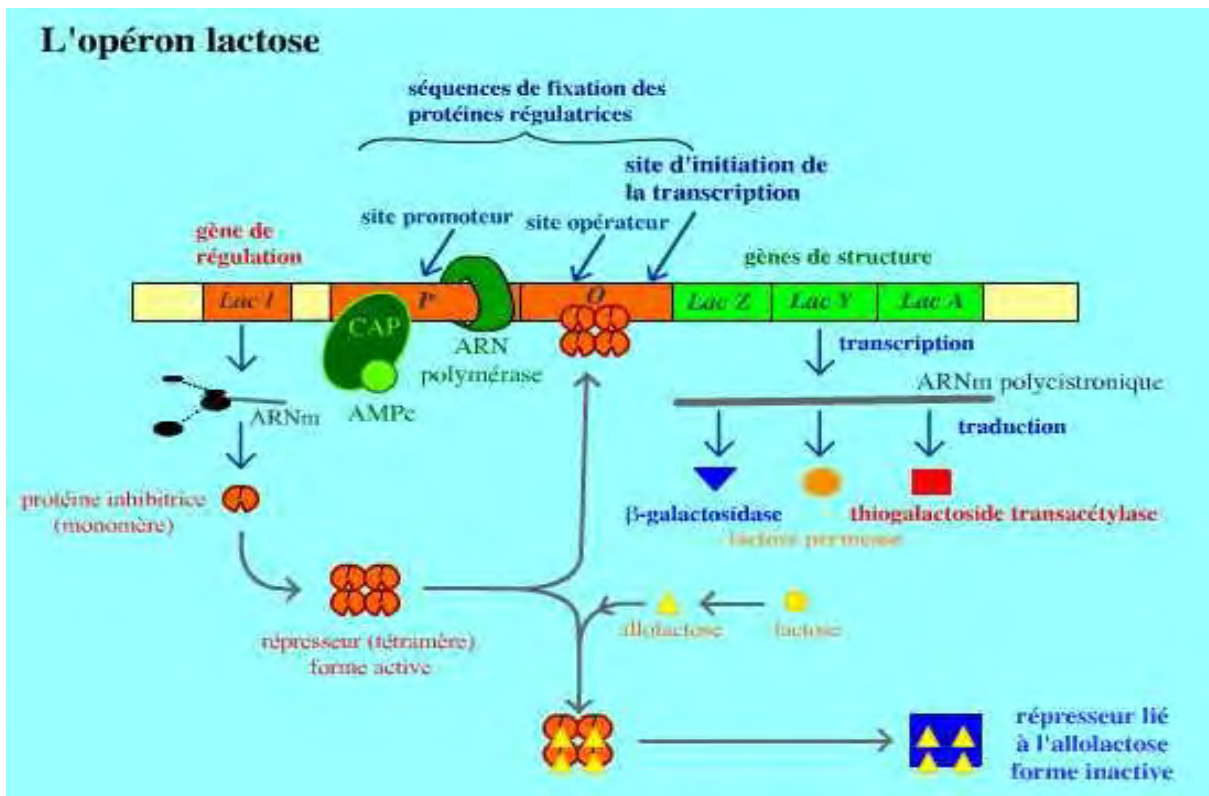
L'expression de ces enzymes est régulée par les éléments régulateurs :

- Un élément actif en cis, l'opérateur.
- Un facteur actif en trans, le répresseur, qui est le résultat du gène **Lac I** et qui agit au niveau de l'opérateur.

Fonctionnement de l'opéron lactose :

En absence de lactose, le gène **Lac I** est exprimé et entraîne la formation du répresseur tétramère actif qui se fixe sur l'opérateur. Cette fixation entraîne une incapacité de l'ADN-polymérase à transcrire le gène dont le promoteur se situe avant l'opérateur.

En présence de lactose, le gène **Lac I** est également exprimé mais cette fois-ci chaque monomère du tétramère fixe l'allolactose qui est le métabolite du lactose au sein d'E-Coli. Cette fixation entraîne la modification de la structure du répresseur qui ne peut plus se fixer sur l'opérateur ce qui permet la transcription des gènes de l'opéron. De cette manière le **lactose** est l'inducteur physiologique. L'inducteur synthétique est l'**IPTG** (isopropylthiogalactoside) qui n'est lui pas métabolisable par la β -galactosidase.



La latence entre la phase I et II s'explique par le temps pris par la bactérie pour synthétiser les gènes de l'opéron.

b) Régulation de l'expression des gènes impliqués dans les voies anaboliques

Pour les voies anaboliques on prendra comme exemple l'**opéron tryptophane** (acide aminé essentiel) qui est un exemple de **gène répressible**.

Dans l'opéron on visualise différents gènes : **Trp A**, **Trp B**, **Trp C**, **Trp D** et **Trp E** qui sont des gènes de structure qui permettent de transformer le **chorismate** en tryptophane) ; ainsi que les éléments de contrôle et le répresseur.

En absence de tryptophane, le répresseur ne se lie pas à l'opérateur ce qui entraîne la transcription des gènes de structure de l'opéron.

En présence de tryptophane, le répresseur se lie au tryptophane et devient ainsi « actif », pouvant se lier à l'opérateur, ce qui entraîne l'inhibition de la transcription des gènes de structure de l'opéron.

Le tryptophane est ici un **co-répresseur**.

The diagram illustrates the regulation of the *trp* operon. The operon structure is shown as a series of boxes: *trpR* (repressor gene), *p* (promoter), *o* (operator), *trpL* (leader gene), *trpE*, *trpD*, *trpC*, *trpB*, and *trpA* (structural genes). The *trpL* gene is followed by a red box representing the attenuator element. The diagram shows two states: 'High levels of tryptophan' and 'Low levels of tryptophan'. In the high tryptophan state, the repressor (red oval) binds to the operator, and the attenuator element is transcribed, leading to 'Attenuated mRNA'. In the low tryptophan state, the repressor does not bind to the operator, and the structural genes are transcribed, leading to 'trp mRNA'. A feedback loop shows tryptophan synthesis from trp mRNA and its inhibition of the repressor.

La régulation au niveau traductionnel est peu utilisée chez les procaryotes. les gènes sont organisés en opérons. Un excès de celles-ci entraîne l'inhibition de leur propre traduction.

Dans les organismes multicellulaires l'expression de gènes différents est à l'origine d'une spécialisation cellulaire. Chez l'Homme on compte 250 types cellulaires différents de part leur morphologie, leur biochimie et leur rôle dans l'organisme.

L'expression des gènes eucaryotes est régulée au niveau chromatinien, au niveau transcriptionnel, au niveau post-transcriptionnel, au niveau traductionnel et au niveau post-traductionnel.

2017/2018

Comme chez les bactéries, c'est généralement l'initiation de la transcription qui est régulée par des protéines. On distingue les séquences cis-régulatrices et les facteurs trans.

Séquence cis régulatrice

Des séquences régulent l'activité des promoteurs : ce sont les enhancers et les silencers.

Une séquence enhancer active les promoteurs de certains gènes en utilisant des facteurs de transcription.

Les séquences silencers, quant à elles, ont l'activité inverse : elles inhibent la transcription.

Les promoteurs des gènes sont des séquences cis-régulatrices. Ils permettent la fixation de l'ARN polymérase II.

Un promoteur est constitué de séquences conservées. Au point d'initiation de la transcription se trouve généralement une adénine encadrée par deux pyrimidines.

A -25 chez les eucaryotes se trouve la TATA box et en -75 se trouve la CAAT box, qui augmente l'efficacité du promoteur. Enfin en -90, on retrouve la CG box, une séquence GGGCGG régulant également la transcription.

Suivant les promoteurs, le nombre et la position de ces séquences varient. Il arrive que des promoteurs soient dépourvus de certaines de ces séquences. Mais tous ces facteurs influent sur la performance du promoteur.

Facteurs trans

Ces protéines viennent se fixer aux séquences cis et peuvent être des activateurs, capables de recruter l'ARN polymérase et le complexe protéique nécessaires à la transcription, ou bien des enzymes capables de modifier les nucléosomes, ou encore des répresseurs empêchant la fixation, entre autres, de l'ARN polymérase

régulation post transcription

La régulation de l'expression des gènes peut se faire en modulant la modification post-transcriptionnelle, et donc stabilité des ARNm.

Elle consiste à un ajout d'une coiffe (GTP plus groupement méthyl) en 5' et d'une queue poly A en 3' (polyadénylation). Sans ces modifications, les ARNm seraient détruits par les RNases.

régulation traductionnelle

Deux voies de régulation de la traduction sont connues : la voie TOR et la voie de réponse au stress. La voie TOR (appelée mTOR pour les mammifères) repose sur la protéine TOR (pour Target of Rapamycine), qui contrôle la croissance cellulaire et le métabolisme. Ces deux voies adaptent l'activité des gènes à l'environnement et aux signaux extracellulaires (par exemple des hormones ou des nutriments).

Elles reposent sur des réactions de phosphorylation de protéines (des activateurs ou des inhibiteurs de gènes).

Ces gènes permettent de détruire des protéines anormales produites à cause du stress, de stimuler les systèmes antioxydants, d'éliminer les constituants endommagés par le stress, et de remplacer les protéines anormales.

Si le stress se prolonge, la cellule subit une apoptose. Des microARN sont également impliqués dans la régulation traductionnelle : en se liant à des ARN messagers, ils bloquent leur traduction.

modification des nucleosomes

Chez les eucaryotes, la chromatine peut se présenter sous forme d'hétérochromatine (ADN condensé autour d'un octamère d'histones : formation de nucléosomes) et d'euchromatine (ADN décondensé).

Seules les séquences de l'euchromatine sont exprimées. L'hétérochromatine rend impossible la transcription. Typiquement, les séquences télomériques et centromériques sont sous forme d'hétérochromatine, ces régions contenant peu ou pas de gènes.

Des enzymes recrutées par des activateurs sont capables de modifier des histones en ajoutant ou en retirant des groupes chimiques. Ainsi, les histones acétylases ajoutent des groupements acétyles, ce qui active les gènes.

Des répresseurs effectuent l'activité inverse : ils recrutent des modificateurs d'histones, comme les histones désacétylases capables de désacétyler les histones. Elles modulent ainsi l'accessibilité du gène par les enzymes de transcription. Ce mécanisme consomme de l'ATP.

Les désacétylations peuvent permettre de maintenir des portions d'ADN à l'état silencieux, et cette condition peut s'étendre à de plus larges segments car les enzymes de modification sont préférentiellement recrutées sur des portions déjà maintenues dans cet état.

D'autres enzymes influent sur l'activité des gènes en méthylant (c'est-à-dire en ajoutant des groupements méthyle, comme pour l'ADN, ce qui inactive la

chromatine) ou phosphorylant (c'est-à-dire en ajoutant des groupements phosphates) les histones, ce qui inactive également les gènes, ou encore la Poly ADP ribosylation.

Il existe une hérédité épigénétique due à la modification d'histones. En effet l'état de modification épigénétique des histones est transmissible.

On sait également qu'il existe un lien avec le métabolisme énergétique. En effet les réactions responsables de l'état des histones, l'acétylation, la méthylation ou la phosphorylation, reposent sur des molécules du métabolisme énergétique

METHYLATION DE L'ADN

Il est également possible d'inhiber des gènes en faisant intervenir une enzyme, l'ADN méthylase, qui a pour fonction de méthyliser l'ADN, généralement au niveau des séquences CpG (Cytosine-phosphate-Guanine).

Ces îlots CpG (aussi appelés îlots CG) sont généralement associés aux promoteurs et donc à l'activité des gènes¹. Le mécanisme est documenté chez les mammifères. Suite à la réplication, les gènes codant pour ces méthyltransférases sont activés et les enzymes reconnaissent le brin hémiméthylé et méthylent le nouveau brin. C'est également un phénomène d'extinction génique.

En effet la méthylation empêche la liaison des complexes enzymatiques de la transcription ainsi que des activateurs. De plus, dans certains cas elle peut permettre la fixation de répresseurs modifiant les histones.

La méthylation concerne généralement les séquences promotrices, et les cellules cancéreuses présentent souvent des méthylations aberrantes⁷. Il est à noter que chez les mammifères femelles, seul l'un des deux chromosomes X est actif. L'autre est désactivé par méthylation.

Certains gènes ne s'expriment que dans certains tissus car ils sont méthylés dans les autres. La méthylation d'ADN est héréditaire (épigénétique).